

Aus dem Zentrum für klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter Leitung von Frau Priv.-Doz. Dr. med. vet. Bettina Wollanke

# **Histologische Untersuchungen des Glaskörpers bei an equiner rezidivierender Uveitis erkrankten Pferden**

Inaugural –Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von Therese Gerda Roth  
aus Bremen

München 2013

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Joachim Braun

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. vet. Bettina Wollanke

Korreferent/en: Priv.-Doz. Dr. Sven Reese

Tag der Promotion: 09. Februar 2013

*Meinen Eltern*

**INHALTSVERZEICHNIS**

INHALTSVERZEICHNIS.....	I
<b>1 EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURÜBERSICHT.....</b>	<b>3</b>
2.1 Der Glaskörper.....	3
2.1.1 Anatomie.....	3
2.1.2 Struktur.....	3
2.1.3 Biochemische Zusammensetzung.....	5
2.1.3.1 Kollagen.....	5
2.1.3.2 Nicht-kollagene Strukturproteine.....	6
2.1.3.3 Glykosaminoglykane.....	7
2.1.3.3.1 Hyaluronsäure.....	7
2.1.3.3.2 Chondroitinsulfat.....	8
2.1.3.3.3 Heparansulfat.....	8
2.1.3.4 sonstige Bestandteile des Glaskörpers.....	9
2.1.4 Rolle der Bestandteile für den Strukturerhalt.....	9
2.1.5 Glaskörperzellen.....	10
2.1.5.1 Hyalozyten.....	11
2.1.5.1.1 Lokalisation, Verteilung, Morphologie und Herkunft.....	11
2.1.5.1.2 Funktion.....	14
2.1.5.2 Fibroblasten und Fibrozyten.....	15
2.1.5.2.1 Lokalisation, Verteilung und Morphologie.....	15
2.1.5.2.2 Funktion.....	16
2.1.6 Pathologie des Glaskörpers.....	16
2.1.6.1 Entwicklungsanomalien.....	16
2.1.6.1.1 Persistierende Arteria hyaloidea.....	16
2.1.6.1.2 Persistierender primärer Glaskörper.....	17
2.1.6.2 Erworbene Veränderungen des Glaskörpers.....	17
2.1.6.2.1 Verflüssigung des Glaskörpers.....	18
2.1.6.2.2 Glaskörpertrübung.....	18
2.1.6.2.3 Glaskörperblutung.....	22
2.1.6.2.4 Glaskörpervorfall.....	22
2.1.6.2.5 Asteroide Hyalose.....	23
2.2 Uvea: Anatomie, Physiologie und Funktion .....	23
2.3 Uveitis beim Pferd.....	24
2.3.1 Equine rezidivierende Uveitis.....	26
2.3.1.1 Vorkommen.....	26

2.3.1.2 Symptome, Verlauf.....	27
2.3.1.3 Pathophysiologie.....	30
2.3.1.4 Ätiologie.....	34
2.3.1.3 Therapie.....	42
2.3.1.4 Immunologische Aspekte.....	45
2.4 Leptospiren und Leptospirose beim Pferd.....	51
2.4.1 Taxonomie und Morphologie.....	51
2.4.2 Pathogenese und Übertragungswege.....	52
2.4.3 Symptome und Verlauf.....	54
2.4.4 Diagnose und Therapie.....	55
2.5 Glaukom.....	56
2.5.1 Vorkommen.....	56
2.5.2 Physiologie des Kammerwassers.....	57
2.5.3 Pathogenese des Glaukoms.....	58
2.5.4 Symptome.....	60
2.5.5 Therapie.....	61
<b>3 MATERIAL UND METHODE.....</b>	<b>64</b>
3.1 Patientengut.....	64
3.2 Probengewinnung.....	69
3.3 Probenaufbereitung.....	71
3.3.1 Histologische Untersuchung.....	71
3.3.2 Zytologische Untersuchung.....	71
3.3.3 Untersuchung auf Leptospiren.....	72
3.4 Auswertung.....	73
<b>4 ERGEBNISSE.....</b>	<b>74</b>
4.1 Ergebnisse in der Gruppe ERU.....	77
4.1.1 Zelldichte.....	77
4.1.1.1 Zelldichte im Zusammenhang mit dem Grad der diffusen Glaskörpertrübung.....	77
4.1.1.2 Zelldichte im Zusammenhang mit dem Grad der Einlagerungen im Glaskörper.....	80
4.1.1.3 Zelldichte im Zusammenhang mit dem zeitlichen Verlauf der ERU.....	83
4.1.2 Zellbild.....	85
4.1.2.1 Zellbild im Zusammenhang mit dem Grad der diffusen Glaskörpertrübung und dem Grad der Einlagerungen im Glaskörper.....	87
4.1.2.2 Zellbild im Zusammenhang mit dem zeitlichen Verlauf der ERU.....	91
4.2 Ergebnisse in der Gruppe Glaukom.....	92
4.2.1 Zelldichte und Zellbild.....	93
4.3 Ergebnisse in der Gruppe Uveitis, die sich klinisch nicht wie eine typische ERU darstellte.....	95
4.3.1 Zelldichte und Zellbild.....	95
4.3.2 Zellbild der einzelnen Patienten.....	96
4.4 Ergebnisse der Kontrollgruppe.....	98

4.4.1 Zelldichte und Zellbild.....	98
<b>5 DISKUSSION.....</b>	<b>99</b>
5.1 Befunde bei augengesunden Pferde.....	99
5.2 Befunde bei an ERU erkrankten Pferden.....	99
5.3 Befunde bei an Glaukom oder „sonstiger Uveitis“ erkrankten Pferden.....	104
5.4 Ausblick.....	106
<b>6 ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>107</b>
<b>7 SUMMARY.....</b>	<b>109</b>
<b>8 ANHANG.....</b>	<b>111</b>
8.1 Danksagung.....	111
8.2 Lebenslauf.....	112
<b>9 LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>113</b>

## 1 Einleitung

Die Equine rezidivierende Uveitis (ERU) ist eine folgenschwere Entzündung des inneren Auges beim Pferd. Sie ist die häufigste Augenerkrankung beim Pferd, tritt meist einseitig auf, kann aber auch beide Augen betreffen und führt nicht selten zur Erblindung der Pferde (KALSOW u. DWYER, 1997; SPIESS, 1997; GERHARDS u. WOLLANKE, 2006; WOLLANKE u. GERHARDS, 2009; TÓTH u. HOLLERIEDER, 2010; GILGER u. DEEG, 2011). Früher wurde sie als periodische Augenentzündung oder auch Mondblindheit bezeichnet und galt bis 2002 als Gewährsmangel beim Pferdekauf (WOLLANKE, 2002). Die typische ERU zeichnet sich aus durch rezidivierende Entzündungsschübe, gefolgt von Ruhephasen, in denen klinisch keine Anzeichen einer akuten inneren Augenentzündung zu sehen sind (GERHARDS u. WOLLANKE, 2006). Im weiteren Verlauf nimmt der Schweregrad der Schübe zu, die Ruhephasen zwischen den Schüben werden immer kürzer und die Strukturen im inneren Auge werden irreversibel geschädigt (GERHARDS u. WOLLANKE, 2006; TÓTH u. HOLLERIEDER, 2010). Mit einer Vitrektomie können zuverlässig weitere schmerzhaftes Entzündungsschübe verhindert werden (WERRY u. GERHARDS, 1991; 1992; GERHARDS u. WOLLANKE, 1996; WINTERBERG, 1997). Dennoch ist die ERU nach wie vor die häufigste Ursache der Erblindung bei Pferden (ABRAMS u. BROOKS; 1990).

WOLLANKE et al. (2004) gehen von einer intraokular persistierenden Leptospiren-Infektion als Ursache der ERU aus. Aus Glaskörperproben konnten mittels PCR Leptospiren-Antigen sowie mittels MAR positive Antikörper-Titer gegen Leptospiren nachgewiesen werden. Ebenso gelang die kulturelle Anzüchtung von Leptospiren aus Glaskörperproben von Pferden, die an ERU erkrankt waren (WOLLANKE et al., 2004). Auch elektronenmikroskopisch konnten Leptospiren im Glaskörper erkrankter Pferde nachgewiesen werden (NIEDERMAIER, 2002; BRANDES et al., 2007). Die genaue Pathogenese und Pathomechanismen sind jedoch weiterhin unklar, ebenso die Frage nach dem Auslöser der Rezidive (WOLLANKE, 2002). KALSOW u. DWYER (1998) sowie WOLLANKE et al. (2004) postulieren ursächlich einen infektiös-assoziierten, immunmedierten Entzündungsprozess. DEEG et al. (2001) dagegen gehen primär von einer Autoimmunerkrankung aus. Gestützt wird ihre Annahme durch den Nachweis von Proteinen, die aus der Retina stammen und als Autoantigene eingestuft werden konnten.

In verschiedenen Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass es im Rahmen eines akuten Entzündungsschubs zur Infiltration sowohl der Uvea als auch des Glaskörpers mit Entzündungszellen kommt. Die entzündlichen Infiltrate bestehen aus Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen, wobei die Lymphozyten, besonders CD4-positive Lymphozyten, das Zellbild dominieren (ROMEIKE et al., 1998; KALSOW u. DWYER, 1998; GILGER et al., 1999; DEEG et al., 2001) .

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Zelldichte und Zellbild von an ERU erkrankten Pferden in Beziehung zu setzen, zum einen zu den Befunden der klinischen Augenuntersuchung und zum anderen zum Krankheitsstadium.



## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Der Glaskörper

#### 2.1.1 Anatomie

Der Glaskörper (*corpus vitreum*) füllt den Raum zwischen Linse, Zonulafasern, Ziliarkörper und Netzhaut (*Retina*) vollständig aus. Er besteht aus einer gallertigen Masse, die ähnlich durchsichtig ist wie Wasser (Sotonyi, 2010) und macht mit einem Volumen von etwa 28 ml etwa 4/5 des gesamten Volumens des Augapfels aus (WISSDORF et al., 2002). Die gallertige Masse des Glaskörpers besteht aus einem feinen Kollagenfasergerüst (*Stroma vitreum*) und einer hyaluronsäurehaltigen Flüssigkeit (*Humor vitreum*) (HOGAN et al., 1971). Im äußeren Randbereich verdichtet sich das Kollagenfasergerüst zu einer oberflächlich gelegenen Grenzmembran (*membrana vitrea* oder auch *membrana hyaloidea*) (HOGAN et al., 1971). Der Glaskörper haftet sehr stark an der Retina, vor allem an der Ora serrata, dem Bereich des Übergangs zwischen Aderhaut (*Choroidea*) und Ziliarkörper (SÓTONYI, 2010). Im rostralen Bereich entsteht durch die Linse eine Eindellung des Glaskörpers zur Linsengrube (*fossa hyaloidea*) (WISSDORF et al., 1998). Als Rudiment der Arteria hyaloidea zieht der Canalis hyaloideus vom Discus nervi optici mittig durch den Glaskörper zum kaudalen Linsenpol (NICKEL et al., 1992).

#### 2.1.2 Struktur

Das Glaskörpergel (*vitreous gel*) ist eine nahezu azelluläre und hochgradig hydratisierte extrazelluläre Matrix; der Wassergehalt beträgt mehr als 98% (BISHOP, 2000).

EISNER (1975) teilte den Glaskörper in drei Zonen ein: Zentral befindet sich schlauchartig die retrolentale Zone, die von der Linsenrückfläche zum Discus nervi optici den Canalis Hyaloideus umgibt. Um die retrolentale Zone schließt sich ringförmig die intermediäre Zone an. Sie enthält ein charakteristisches Membranellensystem, die sog. Tractus vitreales (EISNER, 1975). Die äußerste

Zone ist die präretinale Zone, die die Netzhaut im Bereich zwischen dem Discus nervi optici und der Ora serrata schalenartig bedeckt. Diese homogene Zone enthält keine Membranellen. Auf Grund seiner geringen Strukturdichte zählte EISNER (1975) den Glaskörper des Pferdes zum sog. strukturarmen Typus. WORST (1977) betrachtete diese Tractus als Wände von Zisternen. SEBAG und BALAZS (1989) stellten fest, dass es sich bei den membranösen Strukturen, bzw. Tractus, um Bündel von parallel angeordneten Kollagenfibrillen handelt, die an der Glaskörperbasis entspringen und in anterior-posteriorem Verlauf zum Ansatzpunkt an der Glaskörperrinde ziehen.

SEBAG (1989) teilt den Glaskörper in Zentralgel, Glaskörperbasis und Glaskörperrinde ein.

Das Zentralgel befindet sich im Zentrum und stellt den Hauptbestandteil des Glaskörpers dar. In diesem Bereich befinden sich oben genannte Kollagenfibrillen. Sie bilden ein loses Netzwerk aus zufällig angeordneten Fasern (SCHWARZ, 1976). Die Glaskörperbasis befindet sich ringförmig im Bereich der Ora serrata, überragt diese anterior um 1,5 - 2 mm und posterior um 1 – 3 mm und erstreckt sich einige Millimeter in den Glaskörper hinein (HOGAN, 1963; BISHOP, 2000). Hier setzen im rechten Winkel (SPENCER, 1985) die fächerförmig aus dem Zentralgel ausstrahlenden Kollagenfibrillen an der Retina und an der Pars plana an (HOGAN, 1963). BISHOP (2000) unterteilt diesen dreidimensionalen Bereich nochmals in Glaskörperbasis (*vitreous base*) und darüber liegenden basalen Glaskörper (*basal vitreous*). Die Glaskörperrinde umgibt den gesamten Glaskörper und besteht aus parallel verlaufenden, dicht aneinander liegenden Kollagenfibrillen (SCHWARZ, 1976). Sie wird unterteilt in einen anterioren und einen posterioren Teil (SEBAG, 1989). Der vordere Teil (*anterior vitreous cortex*) befindet sich im Bereich zwischen vorderer Begrenzung der Glaskörperbasis und dem hinteren Linsenpol. Der hintere Teil der Glaskörperrinde (*posterior vitreous cortex*) liegt der Netzhaut an, der Discus nervi optici bleibt jedoch ausgespart. Es besteht eine indirekte Verbindung zwischen der Glaskörperrinde und der inneren Grenzschicht der Retina (*Membrana limitans interna*) (BISHOP, 2000). RHODES (1985) stellte ein feines fibrilläres Netzwerk (*fine filamentous network*) zwischen den Glaskörperfibrillen und der inneren Grenzschicht der Retina dar und vermutete, dass dieses Netzwerk eine Verbindung zwischen Glaskörper und Retina darstellt. In der Glaskörperrinde sind die Zellen des Glaskörpers, die Hyalozyten eingebettet (BALAZS, 1959; SEBAG, 1992).

Bei der Untersuchung mit dem Elektronenmikroskop konnte 2002 erstmals die Ultrastruktur des Glaskörpers von Pferden dargestellt werden (NIEDERMAIER, 2002; NIEDERMAIER et al., 2006). Bei gesunden Pferden waren die Kollagenfibrillen sowohl in gleicher Verlaufsrichtung als auch sich überkreuzend angeordnet, sodass es als astartiges Verzweigungsmuster erschien. Jedoch

konnten keine echten Verzweigungen beobachtet werden. Die Kollagenfibrillen lagen bis zu 800 nm weit auseinander und bildeten so ein weitmaschiges Gerüst. Der Verlauf war leicht bogenförmig und der Durchmesser der Kollagenfibrillen betrug 10-12 nm. Es gab sowohl Bereiche, in denen die Kollagenfibrillen sehr dicht, zum Teil sogar in Bündeln, aneinander lagen, als auch Bereiche, in denen die Abstände deutlich größer waren und auch Bereiche, in denen nur vereinzelt Kollagenfibrillen vorhanden waren. Da das Glaskörpermateriale im Rahmen der Vitrektomie gewonnen wurde und somit überwiegend Teile des Zentralgels untersucht wurden, wurden fast keine intakten Zellen gefunden, sondern nur vereinzelt Zelltrümmer (NIEDERMAIER, 2002). Im Glaskörper befinden sich nur wenige Zellen, die in der Glaskörperrinde lokalisiert sind (SEBAG, 1989; siehe Kap. 2.1.5.1 *Hyalozyten*).

Zwischen den Kollagenfibrillen findet sich die gelartige Masse (*Humor vitreum*), die aus Hyaluronsäure-Molekülen und Wasser (SÓTONYI, 2010) sowie aus weiteren Glykosaminoglykanen (Chondroitinsulfat, Heparansulfat) besteht (BISHOP, 2000).

### 2.1.3 Biochemische Zusammensetzung

#### 2.1.3.1 Kollagen

Kollagen gehört zu den extrazellulären Proteinen und besteht aus drei individuellen Polypeptidketten, sog.  $\alpha$ -Ketten. Jede dieser  $\alpha$ -Ketten besteht zum einen aus kollagenen Regionen mit bestimmten Aminosäuresequenzen (an jedem dritten Rest ist Glycin angelagert und an den anderen Resten Prolin oder Hydroxyprolin) und zum anderen aus nicht-kollagenen Regionen, die sowohl am Ende der Kette als auch zwischen den kollagenen Regionen zu finden sein können. Drei dieser Ketten winden sich umeinander zu einer Triple-Helix-Struktur (*collagenous triple helix*) (BISHOP, 2000), die auch als Monomer bezeichnet werden kann. In der extrazellulären Matrix lagern sich diese Monomere dann zu fibrillären Strukturen zusammen. Die Kollagenfibrillen des Glaskörpers haben größtenteils strangartiges Aussehen, sind nicht verzweigt und bestehen aus drei verschiedenen Kollagen-Typen, nämlich Kollagen Typ II, Typ V/XI und Kollagen Typ IX. Diese gemischten Fibrillen werden als heterotypisch bezeichnet (BISHOP, 2000).

Zu etwa 75% bestehen die Kollagenfibrillen aus Kollagen Typ II, das aus drei identischen  $\alpha$ -Ketten besteht. Die Bestandteile werden von Zellen als lösliche Vorstufe (*Procollagen*) sezerniert und dann

in der extrazellulären Matrix prozessiert (enzymatische Abspaltung von terminalen N- und C-Propetidketten). Dies verringert die Löslichkeit und erhöht die Stabilität der Kollagenfibrillen (BISHOP, 2000).

Etwa 10% der heterotypischen Kollagenfibrillen besteht aus Kollagen Typ V/XI, das aus  $\alpha 1(XI)$ - und  $\alpha 2(V)$ -Ketten besteht. Ein Teil der Kette ist mit Kollagen Typ XI verwandt, das in Kombination mit Kollagen Typ II im Knorpel vorkommt. Der andere Teil der Kette ist mit Kollagen Typ V verwandt, das in Kombination mit Kollagen Typ I in auch in der Haut und der Kornea zu finden ist (BISHOP, 1994).

Kollagen Typ IX ist kein fibrilläres Kollagen, sondern gehört in die Gruppe der Fibrillen-assoziierten Kollagene (*FACIT-Kollagene; fibril-associated collagens with interrupted triple helices*). Es besteht aus drei verschiedenen  $\alpha$ -Ketten, besitzt drei kollagene Regionen, die durch vier nicht-kollagene Regionen unterbrochen werden und hat insgesamt eine deutlich komplexere Struktur als die oben beschriebenen Kollagen Typen. Es ist parallel zu den Kollagenfibrillen im Glaskörper, die aus Kollagen Typ II und Typ V/XI bestehen, angeordnet und mit deren Oberfläche verbunden (BISHOP, 2000). Im Glaskörper liegt Kollagen Typ IX immer als Proteoglycan vor. Es ist mit Chondroitin-Sulfat, einer Glykosamino-Glykan-Kette, verbunden (YADA et al., 1990; BISHOP et al., 1992).

Des weiteren enthält der Glaskörper geringe Mengen an Kollagen Typ VI (BISHOP et al., 1996). Diese Mikrofibrillen bestehen nur aus Kollagen Typ VI-Monomeren, die sich zu doppelbäuchigen Tetrameren zusammenlagern. Man nimmt an, dass diese Kollagen Typ VI-Mikrofibrillen sowohl Kollagen Typ II als auch Hyaluronsäure binden können und somit einen maßgeblichen Beitrag zur Stabilität und der gelartigen Struktur des Glaskörpers leisten, indem sie die Kollagen Typ II-Fibrillen untereinander und mit Hyaluronsäure verbinden (BISHOP et al., 1996).

#### 2.1.3.2 Nicht-kollagene Strukturproteine

Im Glaskörper ist neben den heterotypischen Kollagenfibrillen und den Mikrofibrillen aus Kollagen Typ VI eine dritte fibrilläre Struktur zu finden: die Fibrillin-enthaltenden Mikrofibrillen (WRIGHT u. MAYNE, 1988; BREWTON et al., 1991). Sie kommen zwar weniger oft vor als die heterotypischen Kollagenfibrillen, jedoch öfter als die Mikrofibrillen aus Kollagen Typ VI. Sie

haben ein perlschnurartiges Aussehen und ihr Hauptbestandteil ist Fibrillin-1, ein Glykoprotein, das eine große Anzahl an Kalzium-bindenden Domänen besitzt (BISHOP, 2000). Ein weiterer Bestandteil ist das Mikrofibrillen-assoziierte Glykoprotein-1 (HENDERSON et al., 1996).

Ein weiteres nicht-kollagenes Strukturprotein ist das Protein Opticin (früher Vitrican genannt). Es gehört in die Gruppe der ECM-LRR (*extracellular matrix leucine rich repeat*) – Proteine und bindet an die heterotypischen Kollagenfibrillen des Glaskörpers (REARDON et al., 2000b). Proteine der ECM-LRR – Gruppe sind wichtig für den Erhalt der Anordnung der Kollagenfibrillen und somit für die Erhaltung der Stabilität des Kollagenfasergerüsts. Sie verhindern die Zusammenlagerung und Fusion von parallel angeordneten Fibrillen (BISHOP, 2000; DANIELSON et al., 1997).

MAYNE et al. (1999) fanden im Glaskörper von Rindern ein weiteres Kollagen- bindendes Makromolekül: Vitrin (VIT1). Man vermutet, dass auch Vitrin eine große Rolle beim Strukturhalt des Glaskörpers spielt (BISHOP, 2000).

### **2.1.3.3 Glykosaminoglykane**

Glykosaminoglykane sind Polysaccharide, die sich in der extrazellulären Matrix befinden. Sie bestehen aus sich wiederholenden Disaccharid- Einheiten, die 1-4-glykosidisch zu linearen Makromolekülen verbunden sind. Alle Glykosaminoglykane, außer Hyaluronsäure, liegen gebunden an ein Protein als sog. Proteoglykan vor (BISHOP, 2000).

#### **2.1.3.3.1 Hyaluronsäure**

MEYER und PALMER fanden 1934 erstmals Hyaluronsäure im Glaskörper von Rindern. Auf Grund der Isolation aus dem durchsichtigen Glaskörper (*Hyalos*) und dem Gehalt an Uronsäure entstand der Name Hyaluronsäure (SEBAG, 1989).

Hyaluronsäure ist das am meisten vorkommende Glycosaminoglykan im Glaskörper und man geht davon aus, dass sie von den Hyalozyten in der Glaskörperrinde synthetisiert wird (SEBAG, 1989).

Hyaluronsäure ist ein extrazellulär vorkommendes, lineares Polysaccharid, das aus sich wiederholenden D-Glucuronsäure- $\beta$ 1-3-N-Acetyl-Glucosamin-Einheiten besteht. Als hochgradig

hydratisiertes Polyanion bildet Hyaluronsäure raumfüllende Netzwerke und fungiert als osmotischer Puffer, als Gleitmittel und als Sieb, das für größere Moleküle und Zellen undurchlässig ist. Hyaluronsäure liegt immer als viskoelastische Lösung vor, die im Gegensatz zu echtem Gel fließt (BISHOP, 2000). Die Hyaluronsäurekonzentration ist bei den verschiedenen Spezies unterschiedlich; sie beträgt beim Meerschweinchen etwa 20µg/l und beim Rind etwa 900µg/l (SEBAG, 1989). Beim Pferd liegt die Hyaluronsäure in einer Konzentration von etwa 5µg/l vor (WURSTER, 1979).

#### 2.1.3.3.2 Chondroitinsulfat

Ein geringer Anteil der Glykosaminoglykane im Glaskörper ist Chondroitinsulfat (BALAZS et al., 1958). Es besteht aus sich wiederholenden Disaccharid-Einheiten, aus D-Glucuronsäure und N-Acetyl-Galaktosamin. Diese Form wird nach der Synthese modifiziert, indem der Aminozucker oder weniger häufig auch der Glucuronsäurerest sulfatiert wird (BISHOP, 2000). Chondroitinsulfat liegt im Glaskörper als Proteoglykan vor. Es ist entweder an Kollagen Typ IX oder an das Protein Versican gebunden (BISHOP et al., 1994; REARDON et al., 1998). Der Hauptanteil des Chondroitinsulfats ist an Versican gebunden, das mittels eines sog. Verbindungsproteins (*glycoprotein called link protein*) auch an Hyaluronsäure binden kann (REARDON, 1998). Man nimmt an, dass Versican das Kollagennetzwerk mit anderen Makromolekülen verbinden und so ebenfalls einen Beitrag zur Stabilität des Glaskörpers leisten kann (BISHOP, 2000).

#### 2.1.3.3.3 Heparansulfat

Heparansulfat besteht ebenfalls aus sich wiederholenden Disaccharid-Einheiten, aus  $\alpha(1\rightarrow4)$ -glykosidisch gebundener D-Glucuronsäure und N-Acetyl-D-Glucosamin (BISHOP, 2000). Allen et al. (1977) isolierten erstmals Heparansulfat aus dem Glaskörper von Rindern, später wurde Heparansulfat als Proteoglycan Agrin vorliegend im Glaskörper (TSEN et al., 1995) und in der Retina von Hühnern gefunden (KROGER et al., 1997). Es ist nicht hinreichend geklärt, ob das Heparansulfat eine echte strukturelle Komponente des Glaskörpers darstellt oder ob es von der Basalmembran, die den Glaskörper umgibt, in den Glaskörper eingedrungen ist (BISHOP, 2000).

#### 2.1.3.4 Sonstige Bestandteile des Glaskörpers

Zusätzlich enthält der Glaskörper Proteine, die nicht am strukturellen Aufbau beteiligt sind (SEBAG, 1989). Dazu zählen glaskörpereigene Enzyme und Glykoproteine sowie Serumproteine, deren Konzentration im Glaskörper deutlich geringer ist als ihre Konzentration im Blut (WURSTER u. HOFFMANN, 1985).

Die Konzentration von anorganischen Bestandteilen wie Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium und Chlorid ist im Glaskörper dagegen deutlich höher als im Plasma (WURSTER u. HOFFMANN, 1985; SEBAG, 1989).

Sehr hohe Werte konnten für Laktat und Ascorbinsäure gemessen werden (WURSTER u. HOFFMANN, 1985). SEBAG (1989) vermutet auf Grund der Tatsache, dass Laktat vor allem im hinteren Abschnitt des Glaskörpers gefunden wurde, einen Zusammenhang mit dem hohen aeroben Glukosestoffwechsel der Retina. Der Ascorbinsäure wird die Fähigkeit zugeschrieben, ultraviolettes Licht zu absorbieren (RINGVOLD, 1980; SEBAG, 1989) und freie Radikale abzufangen (BALAZS, 1954; SEBAG, 1989). Somit wird die Retina vor oxidativen Schäden geschützt (SEBAG, 1989).

#### 2.1.4 Rolle der Bestandteile für den Strukturerhalt

Die Struktur des Glaskörpers ist maßgeblich für seine Viskoelastizität und Lichtdurchlässigkeit (SEBAG, 1989). Die Hauptbestandteile sind die Kollagenfibrillen und Hyaluronsäure.

Die Kollagenfibrillen bilden ein weitmaschiges Netzwerk mit der geringsten Dichte im Bereich des Zentralgels und der größten Dichte im Bereich der Glaskörperbasis gefolgt vom Bereich der hinteren Glaskörperrinde und dem Bereich der vorderen Glaskörperrinde (BTTELHEIM u. BALAZS, 1968). Der höchste Gehalt an Hyaluronsäure und Wasser ist im Bereich der hinteren Glaskörperrinde zu finden; er nimmt in Richtung Zentrum ab (BALAZS, 1954; BALAZS et al., 1959). BALAZS (1982) vermutet, dass die Verteilung der Hyaluronsäure daraus resultiert, dass sie von den Hyalozyten in der Glaskörperrinde synthetisiert wird und in den Glaskörper diffundiert. Die Hyaluronsäuremoleküle befinden sich in den Räumen zwischen den Kollagenfibrillen und binden Wasser (SCHWARZ, 1967).



PIRIE et al. (1948) zeigten, dass nach Zerstörung der Kollagenfibrillen durch Kollagenasen der Gelstatus des Glaskörpers nicht mehr gegeben war und stellten so klar, dass die Kollagenfibrillen für die Stabilität des Glaskörpers verantwortlich sind. Um den Gelstatus aufrecht zu erhalten, müssen die Kollagenfibrillen in einer Lösung vorliegen; sie müssen zwar miteinander verbunden sein, dürfen sich aber nicht direkt berühren (BISHOP, 2000). Da Kollagenfibrillen eine natürliche Neigung zur Aggregation besitzen, muss es ein Molekül geben, das diese Aggregation verhindert (BISHOP, 2000). Vermutlich wird dies durch das nicht-kollagene Strukturprotein Opticin (BISHOP, 2000, DANIELSON et al., 1997) oder durch die Proteoglykane (SCOTT, 1992) gewährleistet. Die Proteoglykane verbinden die Kollagenfibrillen über ihre Core-Proteine und Chondroitinsulfatketten miteinander und mit den Hyaluronsäuremolekülen (SCOTT, 1992). Bishop et al. (1999) beobachteten jedoch nach Depolimerisation der Chondroitinsulfatketten keine Veränderungen in der Stabilität des Glaskörpers. Die Hyaluronsäuremoleküle binden Wasser und liegen sowohl entlang der Kollagenfibrillen als auch in den Räumen zwischen den Fibrillen (SCHWARZ, 1976; ASAKURA, 1985; NISHIKAWA u. TAMAI, 1996). BISHOP et al. (1999) erreichten durch den Einsatz von *Streptomyces hyaluronidase* eine Depolimerisation von 94% der im Glaskörper vorhandenen Hyaluronsäure. Er stellte fest, dass etwa 6% der vorhandenen Hyaluronsäure ausreichen, um die volle Entfaltung des Glaskörpers aufrecht zu erhalten. Die Autoren schlussfolgern, dass die gelartige Struktur des Glaskörpers vor allem durch die Kollagenfibrillen selbst mit Hilfe von indirekten Interaktionen durch Makromoleküle, die auf der Oberfläche der Fibrillen lokalisiert sind, wie Opticin und Kollagen Typ VI, aufrechterhalten wird (BISHOP, 2000).

### **2.1.5 Glaskörperzellen**

HANNOVER beschrieb im Jahre 1840 erstmals die Glaskörperzellen. SCHWALBE (1874) ordnete sie auf Grund ihrer Morphologie, ihrer Verteilung und ihres Verhaltens in die Gruppe der Wanderzellen ein. Später benannte er sie als subhyaloidale Zellen (SCHWALBE, 1887). BALAZS bezeichnete sie 1959 als Hyalozyten, wie sie bis heute bezeichnet werden. Neben den Hyalozyten sind im Bereich des Discus nervi optici längliche Fibrozyten-ähnliche Zellen zu finden, die von BALAZS et al. (1964) als Fibrozyten bezeichnet werden.



### **2.1.5.1 Hyalozyten**

#### **2.1.5.1.1 Lokalisation, Verteilung, Morphologie und Herkunft**

Die Hyalozyten befinden sich in der Glaskörperrinde. Sie liegen weit verstreut, jedoch alle in einer Ebene. Diese Ebene befindet sich im hinteren Teil des Glaskörpers, 20-50 µm vor (anterior) der Membrana limitans interna, der Grenzschicht der Retina zum Glaskörper hin, und im vorderen Teil des Glaskörpers im Bereich der Glaskörperbasis und der Pars plana ebenso 20-50 µm von der Basallamina des Ziliarkörperepithels entfernt (SEBAG, 1989). Nur im Bereich des Discus nervi optici und im Bereich des Ziliarkörpers liegen die Zellen auch tiefer im Glaskörpergel (BALAZS et al., 1964).

Die meisten Zellen finden sich im Glaskörper des Rindes (BALAZS et al., 1964) und des Kaninchens (GLOOR, 1969) in der Glaskörperrinde im Bereich der Pars Plana corporis ciliaris. Die Zelldichte nimmt in Richtung Ora serrata und weiter in Richtung Äquator ab. Von dort an bleibt sie einigermaßen konstant bis zum Discus nervi optici und steigt dann wieder an. BALAZS et al. (1964) stellten fest, dass bei Kälbern die Zelldichte größer ist als bei Kühen.

Hyalozyten sind oval oder spindelförmig mit einem Durchmesser von etwa 10-15 µm. Sie weisen einen gelappten Zellkern (Nukleus), einen gut entwickelten Golgi-Apparat, glatte und raue endoplasmatische Retikula und viele große PAS (periodic acid - Schiff - reaction) - positive lysosomale Granula und Phagosomen (SEBAG, 1989). BALAZS et al. (1964) stellten Unterschiede in der Morphologie der Zellen in Abhängigkeit der Lokalisation fest: Die Hyalozyten im Bereich der Retina haben unterschiedlich viele, verschieden große Granula. Die meisten Granula befinden sich perinukleär, zwischen ihnen sind verschieden große Vakuolen anzutreffen. Im Bereich des Discus nervi optici finden sich ebenso Hyalozyten, aber auch ein kleiner Anteil an länglichen fibrozyten-ähnlichen Zellen, die von BALAZS et al. (1964) als Fibrozyten bezeichnet werden. Im Bereich des Ziliarkörpers scheinen die Hyalozyten geringfügig kleiner zu sein als im Bereich der Retina, ebenso enthalten sie geringgradig weniger Granula. Zwischen den Hyalozyten findet sich ein Netzwerk aus Kollagenfibrillen (BALAZS et al., 1964).

Im Bereich der Linsenrückfläche sind keine Zellen zu finden (BALAZS et al., 1964).

Mittels Elektronenmikroskop konnten BLOOM und BALAZS et al. (1965) die Hyalozyten genauer

betrachten: Die rund oder oval bis spindelförmigen Zellen mit einem Durchmesser von 10-15  $\mu\text{m}$  wiesen eine deutliche 9 nm dicke Plasmamembran auf. Zusätzlich zu den bereits oben genannten Merkmalen fanden sich an der Zelloberfläche zytoplasmatische Vorsprünge oder Mikrovilli, die in Größe und Form stark variierten. Sie waren 0,3-0,5  $\mu\text{m}$ , manchmal auch bis zu 2  $\mu\text{m}$  lang und 0,1-0,2  $\mu\text{m}$  breit. Der Zellkern war unterschiedlich geformt, oft gelappt oder länglich und von einer Doppelmembran umgeben. Das Chromatin war unregelmäßig darin verteilt. Die Hyalozyten wiesen weiterhin eine mäßige Anzahl an Mitochondrien auf. Der Golgi-Apparat, lokalisiert in der Nähe des Zellkerns, war sehr gut ausgebildet, raues und glattes endoplasmatisches Retikulum dagegen nur mäßig. Im Zytoplasma fanden sich weiterhin einzelne Ribosomen oder auch Ansammlungen von Ribosomen, sowie zahlreiche in Größe und Form variierende Vesikel mit einem Durchmesser von 0,05-0,2  $\mu\text{m}$  und Vakuolen mit einem Durchmesser von 0,2-0,5  $\mu\text{m}$ . Manche der Vesikel und Vakuolen befanden sich in engem Kontakt mit der Zellmembran, ein Teil von ihnen war leer, der andere Teil enthielt amorphes Material, bläschenartige Strukturen oder dichte Partikel mit einer Größe bis zu 30 nm. Die auffälligste Struktur war jedoch die bereits oben erwähnte heterogene Gruppe der Granula, die größtenteils von einer durchschnittlich 9 nm dicken dreischichtigen Membran umgeben waren. Die Matrix dieser Granula erschien als eine feine körnige Masse von mittlerer Elektronendichte. Darin waren unregelmäßig verteilte 25-60 nm große elektronendichte Partikel zu erkennen. Ein geringerer Anteil der Granula war von globulärer Gestalt und der Inhalt bestand aus kugeligen, wenig elektronendichten Strukturen. TENG (1969a) und SAGA et al. (1984) konnten diese Erkenntnisse im Rahmen ihrer Untersuchung von Glaskörperrindenzellen bei Kaninchen, bzw. Meerschweinchen bestätigen. GÄRTNER (1971) untersuchte Glaskörpermateriale des Menschen und beschrieb Fibroblasten und weitere Zellen, die er auf Grund ihrer Morphologie als Makrophagen einordnete. HADDAD und ANDRÉ (1998) stellten bei Untersuchungen des Glaskörpers von Kaninchens fest, dass sich in der hinteren Augenkammer mehr freie hyalozyten-ähnliche Zellen befinden als Hyalozyten in der Glaskörperrinde vorhanden sind. Weder die Hyalozyten aus der Glaskörperrinde noch die freien Zellen in der hinteren Augenkammer wurden von Antikörpern gegen Kaninchen-Makrophagen erkannt. Somit schlussfolgerten die Autoren, dass die Zellen keine vollständig entwickelten Makrophagen sind.

Auf Grund der Morphologie der Hyalozyten vermuten viele Autoren, dass sie zur Phagozytose fähig sind und charakterisieren sie als Makrophagen-ähnliche Zellen (SZIRMAI u. BALAZS, 1958; HAMBURG, 1959; BALAZS et al., 1964; TENG, 1969a; GÄRTNER, 1971; SAGA et al., 1984), ordnen sie teilweise sogar in die Linie der Makrophagenfamilie ein, da Untersuchungen zur Phagozytoseaktivität in vitro und weitere histochemische Untersuchungen positiv verlaufen sind

(HAMBURG, 1959; BALAZS et al., 1964). GRABNER et al. (1980) entdeckten bei Untersuchungen von menschlichem Glaskörpermaterial weitere Eigenschaften von Hyalozyten. Sie konnten die Phagozytosefähigkeit bestätigen und konnten auf der Oberfläche der Hyalozyten Rezeptoren für Immunglobulin G (IgG) und für Komponenten des Komplementsystems nachweisen. Sie nehmen an, dass die Hyalozyten Abkömmlinge des mononukleär-phagozytierenden Systems sind.

1994 untersuchten LAZARUS et al. menschliche Hyalozyten und stellten fest, dass Hyalozyten auf ihrer Oberfläche die Leukozyten-assoziierten Antigene CD45, CD11a, und CD64 exprimieren. Letzteres wird sonst nur von Monozyten und Makrophagen exprimiert. Weiterhin konnten auf der Oberfläche der Hyalozyten S100 – Protein und MHC II (major-histocompatibility-complex Klasse II) nachgewiesen werden, welche variabel von allen Zelltypen exprimiert werden. Die Hyalozyten unterschieden sich jedoch von anderen Gewebsmakrophagen dadurch, dass sie kein Oberflächenantigen CD68 exprimieren, was von nahezu allen Gewebsmakrophagen exprimiert wird. Auch die Oberflächenantigene CD11b und CD14, die variabel von den Gewebsmakrophagen ausgebildet werden, konnten bei den Hyalozyten nicht nachgewiesen werden. Diese Resultate lassen die Autoren annehmen, dass die Hyalozyten in die Monozyten/Makrophagen-Linie gehören, sich aber durch das Fehlen des Oberflächenantigens CD68 und das Vorhandensein von S100-Protein von anderen Gewebsmakrophagen unterscheiden. QIAO et al. (2005) waren der Meinung, dass Hyalozyten als Gewebsmakrophagen einzuordnen sind. Weiterhin nehmen sie an, dass sich die Hyalozyten aus Knochenmarkszellen entwickeln. NIEDERMAIER (2002) untersuchte erstmals Glaskörpermaterial von Pferden mit dem Elektronenmikroskop. Da die Proben im Rahmen einer Pars plana-Vitrektomie gewonnen wurden, konnte somit nur ein stichprobenartiger Einblick in den Glaskörper gewonnen werden. Bei Pferdeaugen, die nach klinischer Untersuchung für gesund befunden wurden, konnten nur vereinzelt Zelltrümmer und nekrotische Zellen dargestellt werden, jedoch keine intakten Zellen. Die Zelltrümmer erinnerten auf Grund ihrer Morphologie an degenerierte Mitochondrien und Lysosomen, daneben wurden leere Vesikel und Vakuolen und frei liegende kondensierte Zellkerne gesehen. Seltener wurden Anschnitte von nekrotischen Zellen mit erhaltener zytoplasmatischer Membran beobachtet. Sie enthielten stark geschwollene Mitochondrien, Vesikel, Vakuolen und wenige elektronendichte Granula. Dies deutet daraufhin, dass Zelluntergang zu den physiologischen Vorgängen im Glaskörper gehört.

Die genaue Herkunft der Hyalozyten ist bis heute nicht eindeutig geklärt. BALAZS et al. (1980) sahen zwei Möglichkeiten zur Entwicklung der Hyalozyten im Verlauf der Embryonalentwicklung des Glaskörpers: Zum einen undifferenzierte Mesenchymzellen der Augenanlage, die in den

späteren Glaskörperraum einwandern und zum anderen primitive monozytenartige Retikulumzellen des Knochenmarks, die über die Vasa hyaloidea in den Glaskörper gelangen, dann in die Glaskörperrinde migrieren und sich dort zu Hyalozyten differenzieren. GLOOR (1973) war der Meinung, dass eine Einwanderung von ausdifferenzierten Hyalozyten notwendig ist, da beim Kaninchen die Proliferationsrate der Glaskörperzellen spätestens ab dem 20. Lebenstag nicht mehr ausreicht, um die Gesamtzellzahl zu erhalten. Er zeigte, dass Monozyten, die hämatogen über die Retinagefäße und im Bereich des Ziliarkörpers einwandern, ein geringes Proliferationsvermögen besitzen. HADDAD u. ANDRE (1998) hingegen gingen von einer Selbsterneuerung der Hyalozyten aus, wenn diese auch spärlich sein mag. Es konnten nämlich in Reihenuntersuchungen nur sehr selten Zellen in Mitosestadien nachgewiesen werden. QIAO et al. (2005) untersuchten Hyalozyten von Mäusen und nahmen an, dass die Hyalozyten sich aus Zellen entwickeln, die aus dem Knochenmark stammen und sämtliche Hyalozyten etwa halb-jährlich erneuert werden (*turn over*). Sie beurteilten die Morphologie ebenfalls als Makrophagen-ähnlich.

#### 2.1.5.1.2 Funktion

Die Funktion der Hyalozyten ist bis heute nicht restlos geklärt. JACOBSEN (1966) stellte fest, dass die Hyalozyten Enzyme enthalten, die für die Synthese von Hyaluronsäure gebraucht werden. Mit Hilfe von in vivo- (ÖSTERLIN, 1968; 1969) und in vitro- Studien (BALAZS, 1958; HULTSCH u. BALAZS, 1973; HULTSCH, 1979) konnte gezeigt werden, dass Hyalozyten große Mengen an Hyaluronsäure produzieren können. Außerdem können sie neben Hyaluronsäure auch sulfatierte Glykosaminoglykane herstellen (BLECKMANN, 1984). JACOBSEN (1984a, b) entdeckte in Hyalozyten aus dem Glaskörper von Rindern aktive Formen der Enzyme Sialyl- und Galaktosyltransferase, was vermuten lässt, dass die Hyalozyten mit Hilfe dieser Enzyme die Synthese von Glykoproteinen katalysieren können. NEWSOME et al. (1976) konnten in in-ovo- und in vitro-Studien an Hühnerembryonen mit markiertem Prolin zeigen, dass das Kollagen zuerst von der neuronalen Retina, später dann von den Hyalozyten synthetisiert wird. Auch HOFFMANN u. WURSTER (1974) sind auf Grunde der Verteilung der hochmolekularen Stoffe und der Enzyme der Meinung, dass sie von den Hyalozyten synthetisiert werden.

Im Gegensatz dazu machten BERTAZOLLI-FILHO et al. (1996) die innere Schicht des Ziliarkörperepithels auf Grund der sekretorischen Aktivität für die Synthese der Makromoleküle verantwortlich. NISHITSUKA et al. (2007) konnten in in vitro-Studien an Hyalozyten von

Schweinen die Hyaluronsäure-Produktion mit Wachstumsfaktoren beeinflussen und steigern.

### **2.1.5.2 Fibroblasten und Fibrozyten**

#### **2.1.5.2.1 Lokalisation, Verteilung und Morphologie**

Insgesamt beträgt der Anteil der Fibroblasten und Fibrozyten am Gesamtzellgehalt des Glaskörpers etwa 10% (SEBAG, 1992). Im Bereich des Discus nervi optici findet sich neben Hyalozyten auch ein kleiner Anteil von länglichen Fibrozyten-ähnlichen Zellen, die von BALAZS et al. (1964) als Fibrozyten bezeichnet werden. Er beschreibt weiterhin, dass sich diese Zellen aus undifferenzierten Mesenchymalzellen entwickeln, die während der Embryonalentwicklung entweder durch die Öffnung zwischen dem Rand des Augenbechers und der Linse oder durch den offenen Augenbecherspalt in den Glaskörperraum gelangen (BALAZS et al., 1980). Sie sind etwa 200 µm lang, besitzen Zytoplasma-Ausläufer und enthalten im Zytoplasma viele Mitochondrien und im Gegensatz zu den Hyalozyten nur wenige kleine gleichmäßig geformte Granula, die in der PAS-Reaktion negativ sind. Der Zellkern ist länglich und von einer doppelten Membran umgeben. In dessen Nähe befindet sich der gut ausgebildete Golgi-Apparat, das raue endoplasmatische Retikulum erscheint länglich und oft gebläht (TENG, 1969b). Die Fibrozyten liegen eng aneinander in der Schicht der Glaskörperrinde, in der die dünnen Kollagenfibrillen verzweigt sind und ein dichtes Netzwerk bilden. Nur in diesem Bereich konnte ein solches Netzwerk beobachtet werden. Bei adulten Rindern und Schafen formen die Fibrozyten sogar Zellhaufen (*cluster*), die von den Kollagenfibrillen zusammen gehalten werden (BALAZS et al., 1964).

Im Bereich der Glaskörperbasis befinden sich Zellen, die eher als Fibroblasten einzuordnen sind (GÄRTNER, 1965; 1971; BALAZS et al., 1980). GÄRTNER (1965) berichtete, dass die Fibroblasten im Bereich der Pars plana auch tief in den Buchten des Ziliarkörperepithels liegen und die Pars plana mit ihren Fortsätzen wie ein Netz überziehen. Sie wiesen eine unregelmäßige Oberfläche mit tiefen Einbuchtungen auf; im Inneren waren zahlreiche rundliche Hohlräume gefüllt mit einer homogen-wolkigen Substanz zu sehen. BALAZS (1980) beschreibt die Fibroblasten als längliche Zellen mit schlanken Pseudopodien, ovalem Kern und zahlreichen Granula. Außerdem stellte er fest, dass mit steigendem Alter die Zahl der Fibroblasten im Bereich der Pars plana abnimmt.

#### **2.1.5.2.2 Funktion**

GÄRTNER (1986) entdeckte auf der Oberfläche und in Invaginationen der Fibrozyten Material mit hohem Glykosaminoglykangehalt und geht deshalb davon aus, dass die Fibrozyten im senilen Auge zur Phagozytose und / oder Sekretion von Kollagen fähig sind. Weiterhin schreibt er ihnen eine Rolle beim Alterungsprozess des Kollagennetzwerks im Bereich der Glaskörperbasis zu. BLECKMANN (1984) zeigte, dass Fibroblasten des Glaskörpers in vitro Glykosaminoglykane synthetisieren können. Auch SEBAG (1992) geht auf Grund der Funktion von Fibroblasten in anderen Geweben davon aus, dass sie an der Kollagensynthese im Glaskörper beteiligt sind.

### **2.1.6 Pathologie des Glaskörpers**

#### **2.1.6.1 Entwicklungsanomalien**

##### **2.1.6.1.1 Persistierende Arteria hyaloidea**

Die Arteria hyaloidea verläuft während der Embryonalentwicklung vom Discus nervi optici durch den Glaskörperraum zur Linsenrückfläche, wo sie sich mit dem hinteren Teil der Tunica vasculosa der Linse verbindet. Physiologischerweise ist der Rückbildungsprozess vor der Geburt abgeschlossen (BARNETT, 2004). Ist dies nicht der Fall, kann der gesamte Verlauf der Arteria hyaloidea erhalten bleiben. Bei der ophthalmoskopischen Untersuchung zeigt sich dann eine meist undurchsichtige schnurartige Trübung, die bei der Augenbewegung leichte Schwingungen ausführt. Diese Veränderung kommt relativ selten vor und führt in der Regel nicht zu Sehstörungen (TÓTH u. HOLLRIEDER, 2010), ist jedoch manchmal vergesellschaftet mit anderen kongenitalen Anomalien. Eine Therapie ist nicht indiziert, in den meisten Fällen kommt es zu einer spontanen Rückbildung der persistierenden Arteria hyaloidea im Alter von sechs bis neun Monaten (BARNETT, 2004).

MUNROE (2000) berichtet in einer Studie, dass bei über 80% von 169 untersuchten Vollblut-Fohlen Teile der Arteria hyaloidea und bei 60% der Fohlen die gesamte Arteria hyaloidea vorhanden waren. In den meisten Fällen waren die Veränderungen bilateral und symmetrisch und

nicht mit einer Sehstörung einhergehend. Nach SCHMIDT (2006) kann man bei 70% der neugeborenen Fohlen die in Rückbildung befindlichen Gefäßschläuche der A. hyaloidea als Membranen im Glaskörper erkennen. Sie sieht dieses Phänomen als physiologisch an.

HURN und TURNER (2006) dagegen untersuchten 204 Vollblut-Rennpferde in Australien und beschrieben nur einen Fall mit persistierender Arteria hyaloidea.

Als Mittendorf-Fleck wird die nicht vollständig verschwundene Anheftungsstelle der Arteria hyaloidea an der Linsenrückfläche bezeichnet. Er erscheint als exzentrisch gelegener, dunkler, bei der Durchleuchtung weißer Fleck auf der hinteren Linsenkapsel, eventuell mit einem feinen Filament in Richtung Glaskörperraum (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

#### **2.1.6.1.2 Persistierender primärer Glaskörper**

Hierbei handelt sich um Reste des primären Glaskörpers aus der Embryonalentwicklung, der sich nicht vollständig zurückgebildet hat. Die klinischen Erscheinungen reichen von harmlosen Pigmentflecken auf der Linsenrückfläche bis hin zu umfangreichen Trübungen des Glaskörpers, die teilweise sogar mit blutgefüllten Gefäßen durchsetzt sind (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). BARNETT et al. (2004) beschreiben es als optisch dichte, membranöse Struktur, die sich unterschiedlich weit in den Glaskörper ausdehnt und oft an der Linsenrückfläche, selten am Discus nervi optici fixiert ist. Als hyperplastisch wird die Veränderung dann bezeichnet, wenn diese membranösen Strukturen von proliferierender und fibrovaskulärer Natur sind. Dies verursacht eine offensichtliche Leukokorie.

Sowohl ein persistierender primärer Glaskörper als auch ein persistierender hyperplastischer primärer Glaskörper sind beim Pferd sehr selten (BARNETT et al., 2004).

#### **2.1.6.2 Erworbene Veränderungen des Glaskörpers**

Erworbene Veränderungen des Glaskörpers sind in der Erkrankung der ihm benachbarten Strukturen, wie der Uvea oder der Retina, begründet. Selbstständig erworbene Veränderungen des Glaskörpers gibt es nicht (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).



#### 2.1.6.2.1 Verflüssigung des Glaskörpers

Die Glaskörperverschmelzung (*Syneresis corpus vitrei*) kann sowohl physiologisch mit zunehmenden Alter als auch pathologisch als Folgeerscheinung bei entzündlichen Prozessen der Uvea oder der Retina auftreten (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

Der Glaskörper des Pferdes ist geleeartig und bleibt es in der Regel auch lebenslanglich. Es kann jedoch ab dem sechsten Lebensjahr zu einer geringgradigen Verflüssigung kommen, die bei anderen Tierarten noch stärker ausgeprägt ist (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Im verflüssigten Glaskörper lassen sich zum Teil Cholesterinkristalle (*Synchisis scintillans*) nachweisen, man spricht auch von einer Cholesterinhyalose. Die Cholesterinkristalle stammen vermutlich aus nicht vollständig abgebauten Erythrozyten nach einer Blutung oder einer Entzündung im Glaskörper. Im Licht des Augenspiegels sieht man sie als silbern oder golden glitzernde, sich bewegende Teilchen, die eventuell zu Sehstörungen und Schreckhaftigkeit führen können. In diesen Fällen ist dann eine Vitrektomie am entzündungsfreien Auge indiziert (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

Eine Glaskörperverschmelzung kann auch pathologisch im Rahmen entzündlicher Prozesse der Retina oder im Rahmen einer Uveitis auftreten. Meist ist sie dann vergesellschaftet mit Trübungen des Glaskörpers. Auf Grund der Verflüssigung erscheinen die Trübungen als schwimmende Teilchen, sog. *Floater* (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

#### 2.1.6.2.2 Glaskörpertrübung

Die Glaskörpertrübungen (*Opacitates corporis vitrei*) treten im Rahmen einer Uveitis, Retinitis oder Papillitis auf und bestehen dem zu Folge aus mehr oder wenig großen Mengen an entzündlichem Exsudat, Retinateilen oder Blutgerinnseln. Bei einer diffusen Glaskörpertrübung verteilt sich das entzündliche Exsudat in Form feiner Granula im gesamten Glaskörper und man kann den Augenhintergrund bei der ophthalmoskopischen Untersuchung nicht scharf, sondern nur verschwommen oder schemenhaft erkennen. Es besteht ein gelber Fundusreflex (BARNETT et al., 1995; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Bei fokalen Glaskörpertrübungen lagern sich die Partikel zu wolkenähnlichen oder fädigen Strukturen (*Floater*) zusammen, die sich im verflüssigten Glaskörper bewegen können (BARNETT, 1995; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

Bei einer Entzündung von Geweben, die dem Glaskörper benachbart sind, kommt es zuerst zu einer



Exsudation und zelligen Infiltration des Glaskörpers. Somit entsteht zunächst eine diffuse Glaskörpertrübung. Später können die Entzündungsprodukte dann zu Membranen konfluieren. Die Entzündungszellen können auch an den Kollagenfibrillen haften und so zu deren Aggregation führen. Es ist möglich, dass der Debris und die Membranen von Makrophagen phagozytiert und so die Exsudate resorbiert werden (SEBAG, 1989; BARNETT, 1995; WOLLANKE 2002).

SEBAG (1989) führt mehrere Ursachen für eine Invasion von Zellen in den Glaskörper auf:

### 1. Zellproliferation an der Kontaktfläche zwischen Glaskörper und Retina

Hier wird je nach den beteiligten Zelltypen zwischen Zellinfiltration von vaskulären Zellen, von Neurogliazellen und von Zellen des retinalen Pigmentepithels unterschieden.

Die Neurogliazellen finden sich häufig in sog. idiopathischen Membranen („*idiopathic membranes*“), die vom Discus nervi optici oder von der umliegenden Region ausgehen.

Zellen des retinalen Pigmentepithels kommen am häufigsten in Membranen im Glaskörper im Rahmen einer proliferativen Vitreoretinopathie vor. Es sind jedoch in 50% der Fälle von proliferativer Retinopathie neben Zellen des retinalen Pigmentepithels auch Neurogliazellen in den Membranen vorhanden.

Unter dem Begriff der vaskulären Zellinvasion des Glaskörpers versteht SEBAG (1989) die Ausbildung von Blutgefäßen von der Retina und vom Discus nervi optici ausgehend in den Glaskörperraum. Er gibt als Ursache eine Ischämie der Retina an, wobei Wachstumsfaktoren und gefäßproliferations-fördernde Faktoren ausgeschüttet werden und zur Neovaskularisation führen.

### 2. Zellinvasion auf Grund von stumpfen oder penetrierenden Traumata

Über die Auswirkung von stumpfen Traumata auf den Glaskörper selbst ist wenig bekannt. Wenn durch die stumpfe Traumatisierung des Auges eine Netzhautablösung entsteht oder Gewebe um den Glaskörper herum verletzt werden, kann es zu einer begleitenden Zellinvasion in den Glaskörper kommen, ebenso kann es auf Grund von Kompression zu Nekrosen im Glaskörpergewebe kommen. Da bei penetrierenden Traumata Gewebe im Auge und somit natürliche Barrieren verletzt werden, kommt es hier leicht zu einer Zellinvasion in den Glaskörper. Weiterhin steigt die Gefäßpermeabilität auf Grund der Entzündungsreaktion, Serumproteine strömen ein und die Hyaluronsäurekonzentration im Glaskörper sinkt. Die Zellproliferation ist bereits zwei bis vier Tage nach dem Trauma nachzuweisen und der Höhepunkt zeigt sich etwa eine Woche nach dem Trauma

(FAULBORN u. TOPPING, 1978; SEBAG, 1989).

### 3. Zellinvasion in den Glaskörper im Rahmen einer Entzündung

Hier handelt sich laut SEBAG (1989) um eine sekundäre Zellinfiltration in den Glaskörper als Begleiterscheinung von Entzündungen des Ziliarkörpers, der Choroidea und der Retina.

Es gibt auch Berichte, dass es bei Entzündungen der Kornea oder der Iris zu Zellinfiltration in den Glaskörper kommt (HOGAN, 1963). HOGAN (1975) beschreibt die Folgen der Entzündung im benachbarten Gewebe für den Glaskörper: Die sofortigen Reaktionen (*immediate effects*) sind erhöhte Gefäßpermeabilität (*vascular incompetence*), Enzymausschüttung durch Leukozyten und Makrophagen und Antikörperproduktion durch Lymphozyten und Plasmazellen. Dies resultiert dann in Glaskörperverflüssigung, Glaskörpertrübung (*vitreous opacification*) und Schrumpfung des Glaskörpers. Danach folgen die Übergangsreaktionen (*intermediate effects*) in Form von Resorption der Glaskörpertrübung einerseits und Ausbildung von Membranen andererseits, Glaskörperverflüssigung im Bereich des Zentralgels, weiterer Schrumpfung des Glaskörpergewebes und zum Teil auch Neovaskularisation des Glaskörpers. Als Spätfolgen (*late effects*) beschreibt er weitere Resorption der Entzündungsprodukte, hohe Aktivität von Makrophagen, die Debris phagozytieren und proteolytische Enzyme freisetzen. Hierbei können retinale Narben entstehen; ein Teil der Membranen kann dauerhaft bestehen bleiben (HOGAN, 1975; SEBAG, 1989).

Im Allgemeinen werden Entzündungszellen, die in den Glaskörper gelangen, sehr schnell nekrotisch (SPENCER, 1985). Dies konnte in den Untersuchungen von NIEDERMAIER (2002) und BRANDES et al. (2007) bestätigt werden.

ROIZENBLATT et al. (1980) berichteten von zylindrischen Strukturen, die im Verlauf von Uveitiden, begleitend bei einer Kurzsichtigkeit, bei Netzhautablösungen, bei Entzündungen der Pars plana und auch begleitend bei Tumoren im Glaskörper vorkommen. Sie bestehen aus kondensierten Kollagenfibrillen, die abhängig von der Ursache der Entzündung, von verschiedenen Zellen ummantelt sind. Im Glaskörper von alternden Menschen sind ebenfalls Aggregate von Kollagenfibrillen, jedoch ohne die Ummantelung durch Entzündungszellen, zu finden (SEBAG, 1989). Es ist nicht sicher, ob es sich bei den zylindrischen Entzündungs-assoziierten Strukturen und Aggregaten von Kollagenfibrillen um die gleichen Strukturen handelt (SEBAG, 1989).

Andere Autoren beschreiben eine Vitritis, eine Glaskörperentzündung, bei der der Glaskörper nicht nur passiv beteiligt ist und bei der charakteristisch eine Ansammlung von Entzündungszellen,

hauptsächlich von mononukleären Zellen, im Glaskörper besteht. Des Weiteren kann man fokale Glaskörpertrübungen beobachten, die als „snow-banks“ bezeichnet werden. Die Trübungen sehen baumwollähnlich aus und überlagern Retina und Pars plana (BROCKHURST et al., 1961; MAUMENEE, 1970; SEBAG, 1989).

DEEG et al. (2001) untersuchten Glaskörpermaterial von Pferden, bei denen auf Grund einer equinen rezidivierenden Uveitis eine Vitrektomie durchgeführt wurde. Hierbei zeigte sich, dass der Großteil (>90%) der Zellen, die nach einer Filterpassage im Glaskörpermaterial gefunden wurden, Lymphozyten waren. Mehr als 50% der Lymphozyten waren CD4+-T-Zellen. Da diese bei in vitro-Stimulation mit körpereigenen Proteinen (aus der Reihe von S-Antigen und Interphotorezeptor-binding-protein (IRBP)) stark positive Reaktionen zeigten, gehen die Autoren davon aus, dass es sich hier um autoreaktive T-Zellen handelt. Weiterhin wurden geringere Anteile an Granulozyten und unter den übrigen Lymphozyten geringere Anteile an CD8+-T-Zellen und B-Zellen gefunden. Es bleibt aber unklar, welches Protein der Auslöser dieser Autoimmunreaktion ist.

NIEDERMAIER (2002) untersuchte Glaskörpermaterial von Pferden, die an equiner rezidivierender Uveitis erkrankt waren und klinisch eine Glaskörpertrübung zeigten, mit dem Elektronenmikroskop. Sie berichtete neben deutlichen Entzündungsanzeichen, nämlich der Infiltration des Glaskörpers mit Lymphozyten, lymphoiden Zellen, Plasmazellen, Fibrozyten/Fibroblasten und Zellen des mononukleär-phygozytierenden Systems, auch von einer Aggregation der Kollagenfibrillen zu dichten Bündeln. Die klinisch feststellbaren Glaskörpertrübungen bestanden aus mononukleären Entzündungszellen, extrazellulär gelegenen Zelltrümmern und dichten Fibrillenbündeln. Sie interpretiert dies als eine entzündungsbedingte Destruktion des Glaskörpergerüsts. Weiterhin berichtet sie von einer großen Anzahl von Zelltrümmern und degenerierten Zellen, was für eine hohe nekrotische Aktivität im entzündlich veränderten Glaskörper spricht. Außerdem konnten aus dem selben Probenmaterial sowohl Leptospiren in der Kultur angezüchtet werden als auch ein positiver Antikörpertiter bestimmt werden, was für eine intraokulare Leptospireninfektion als Ursache der Equinen rezidivierenden Uveitis spricht. Bei Beurteilung des Glaskörpermaterials mit dem Elektronenmikroskop konnten Leptospiren-entsprechende Strukturen beobachtet werden.

TÓTH u. HOLLRIEDER (2010) beschreiben die Vitritis als schwerwiegende sekundäre septikämisch bedingte Entzündung in Folge einer systemischen Septikämie. Klinisch sind Glaskörpertrübung sowie deutliche Anzeichen der Entzündung der umliegenden Gewebe zu

beobachten.

#### 4. Zellinvasion in den Glaskörper auf Grund einer Neoplasie

SEBAG (1989) führt an, dass es zu einer Zellinfiltration des Glaskörpers kommen kann, wenn sich ein Retinoblastom, vor allem die endophytische Form, entwickelt. Die Zellen des Retinoblastoms können in den Glaskörper gelangen und dort Aggregate bilden. Die Zellen eines Melanoms in der Choroidea können ebenfalls in den Glaskörper gelangen, oft treten in diesem Zusammenhang Blutungen in den Glaskörper auf. Bei einem Sarkom der Retikulum-Zellen, einer malignen Form des histiozytären Lymphoms, ist die Zellinfiltration des Glaskörpers oft die einzige klinische Manifestation (SEBAG, 1989).

##### **2.1.6.2.3 Glaskörperblutung**

Glaskörperblutungen (*Haemorrhagia corporis vitrei*) treten meist in Folge eines Traumas auf. Der Ausprägungsgrad einer Glaskörperblutung variiert von Fall zu Fall sehr stark, je nach Lokalisation und Anzahl der rupturierten Gefäße von Ziliarkörper, Choroidea und oder Retina (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Im schlimmsten Fall ist der Glaskörper vollständig blutgetränkt; es besteht ein Hämophthalmus, der je nach Alter der Blutung kräftig rot, später rot-braun und letztendlich schwärzlich gefärbt und undurchsichtig ist. Das Sehvermögen ist stark beeinflusst bis vollständig aufgehoben. Eine Resorption der Einblutung ist nicht zu erwarten. Im weiteren Verlauf kommt es zu einer Destruktion des Fibrillengerüsts des Glaskörpers, teilweise auch zu Verdichtung des Glaskörpergerüsts, zu Glaskörperverflüssigung und Ablösung und Degeneration der Retina (SCHMIDT, 2006). Die Prognose bei ausgedehnten Einblutungen in den Glaskörper ist vorsichtig bis schlecht, in manchen Fällen kann eine Vitrektomie zum Erfolg führen (GERHARDS u. WOLLANKE, 2005; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

##### **2.1.6.2.4 Glaskörpervorfall**

Bei einer Protrusio corporis vitrei (Vorwölbung) wölbt sich der Glaskörper in die vordere Augenkammer vor. Dies geschieht nach vollständiger Linsenluxation oder nach Entfernung der Linse. Wenn in Folge der Glaskörpervorwölbung die Iris mit dem Hornhautendothel in Kontakt

steht, muss die Iris chirurgisch entfernt werden (Iridektomie) (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Bei penetrierenden Hornhaut- und oder Skleraverletzungen kann neben anderem Augeninhalt auch der Glaskörper vorfallen, was als Prolapsus corporis vitrei bezeichnet wird. Dies ist eine der schwersten Augenverletzungen, oft entwickelt sich daraus eine Panophthalmitis, was die Indikation für eine Enukleation darstellt (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

#### **2.1.6.2.5      Asteroide Hyalose**

Hierbei handelt es sich um eine physiologische Alterserscheinung. Im ansonsten unauffälligen Glaskörper älterer Pferde sieht man winzige, glänzende, rundliche weiße Körnchen. Es sind Kristalle aus kalziumhaltigen Phospholipiden. Im unbewegten Auge kommt es zur Sedimentation und die Kristalle befinden sich dann an den das Glaskörpergerüst bildenden Fasern. In der Regel kommt es dadurch nicht zu einer Sehstörung (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

## **2.2            Uvea: Anatomie, Physiologie und Funktion**

Die Uvea gliedert sich in Iris (Regenbogenhaut), Ziliarkörper und Choroidea (Aderhaut).

Die Iris wird durch den circulus arteriosus minor in einen helleren zentralen und einen dunkler pigmentierten peripheren Abschnitt geteilt (SPIESS, 1997). Ihre Aufgabe ist die Regulation des Lichteinfalls in das Augenninnere (GUM, 1991), Sie ist normalerweise beim Pferd braun, kann aber auch blau oder weiß gefärbt sein. Man spricht dann von einem Birk- oder Fischauge (SPIESS, 1997). Die Iris begrenzt die Pupille, die beim Pferd quer-elliptisch geformt ist. Im Dunkeln bei maximaler Mydriasis ist sie annähernd rund und bei hellem Licht verengt sie sich zu einem schmalen Querspalt (SPIESS, 1997).

Der Ziliarkörper besteht aus zwei Teilen: Pars plicata und Pars plana. Die Pars plicata liegt direkt hinter der Iris und stellt die Ziliarfortsätze, die von einem doppelten Epithel, dem inneren pigmentierten Epithel und dem äußeren nicht-pigmentierten Epithel, überzogen sind, dar. Die Pars plana ist der Übergangsbereich zwischen den Ziliarfortsätzen und der Neuroretina (SPIESS, 1997).

Das nicht pigmentierte Ziliarepithel produziert in einer Kombination aus passiver Diffusion, Ultrafiltration und aktiver Sekretion das Kammerwasser. Es wird als klare Flüssigkeit in die hintere Augenkammer sezerniert, gelangt über die Pupillaröffnung in die vordere Augenkammer und verlässt dann das Auge über den Kammerwinkel (GUM, 1991). Da physiologischerweise genau so viel Kammerwasser abfließt wie produziert wird, bleibt der Augeninnendruck konstant auf einem gleichmäßigen Niveau. (SPIESS, 1997). Die Blut-Kammerwasser-Schranke verhindert den Übertritt von hochmolekularen Stoffen aus dem Blut in das Kammerwasser. Die Tight-junctions der lateralen Zellmembranen des nicht pigmentierten Ziliarepithels stellen die epitheliale Komponente dar und die tight-junctions der Gefäßendothelien der Iris bilden die endotheliale Komponente (COOLEY et al., 1990; GUM, 1991). Neben der Kammerwasserproduktion gewährleistet der Ziliarkörper durch Kontraktion und Entspannung der Ziliarmuskeln die Akkomodation (GUM, 1991).

Die Choroidea ist der hintere Teil der Aderhaut, sie besteht von außen nach innen aus mehreren Schichten: der Lamina fusca, der Lamina suprachoroidea, den großen Gefäßen und der Lamina choriocapillaris (SAMUELSEN, 1991; SPIESS, 1997). Die innerste Schicht, die Bruch'sche Membran, ist die Basalmembran des retinalen Pigmentepithels (SPIESS, 1997). Sie bildet den epithelialen Teil und die tight-junctions der Netzhautkapillaren bilden den epithelialen Teil der Blut-Netzhaut-Schranke. Die Aufgabe der Choroidea ist die Ernährung der Netzhaut. Die Nährstoffe werden mit speziellen Transportmechanismen über die Blut-Netzhaut-Schranke in die Retina verbracht (GUM, 1991).

### **2.3 Uveitis beim Pferd**

Bei einer Entzündung der Uvea, einer Uveitis, sind entweder mehrere oder nur ein Teil der Uvea betroffen. Auf Grund des anatomischen Zusammenhangs der Strukturen untereinander kommt es sehr viel häufiger vor, dass mehrere Abschnitte der Uvea betroffen sind (GERHRDS u. WOLLANKE, 2001; WOLLANKE, 2002; WOLLANKE u. GERHRDS, 2009; TÓTH u. HOLLRIEDER, 2010).

Bei einer Entzündung der Iris spricht man von einer Iritis, ist der nur Ziliarkörper betroffen, so handelt es sich um eine Zyklitis. Sind jedoch beide Strukturen betroffen, spricht man von einer Iridozyklitis oder einer Uveitis anterior (vordere Uveitis). Oftmals ist es nicht möglich, exakt zu unterscheiden, welche der beiden Strukturen mehr betroffen ist.

Eine Uveitis posterior entsteht bei einer Entzündung der Choroidea und wird auch Choroiditis

genannt. Sie kann auch in Kombination mit einer Entzündung der Retina vorkommen, dies wird dann als Chorioretinitis bezeichnet.

Eine Panuveitis entsteht wenn alle drei Teile der Uvea am Entzündungsprozess beteiligt sind (WOLLANKE, 2002; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

Die initialen Symptome einer Uveitis sind Chemosis, gerötete Konjunktiven, Blepharospasmus, Epiphora, Photophobie, Fibrinerguss in der vorderen Augenkammer (*aqueous flare*), Trübung des Kammerwassers und Miosis. Später können dann Hornhauttrübung und vor allem im Verlauf einer hinteren Uveitis oder einer Panuveitis Glaskörpertrübung und Einlagerungen im Glaskörper hinzukommen. Der Augeninnendruck ist in der Regel erniedrigt, da auf Grund der akuten Schwellung des Ziliarkörpers und in chronischen Fällen auf Grund der Schrumpfung des Ziliarkörpers die Gefäße komprimiert werden und so Produktion von Kammerwasser verringert ist.

Die Folgen einer Uveitis sind nicht unerheblich; Es können hintere und selten auch vordere Synechien entstehen, eine Katarakt, eine Linsensubluxation oder vollständige Linsenluxation, ein Glaukom oder auch eine Ablösung der Retina. Ebenso könne dauerhafte Trübung, Degeneration oder Vaskularisation der Hornhaut sowie Glaskörpertrübungen und Einlagerungen im Glaskörper Folgen der Uveitis sein. Schließlich können dauerhafte Visuseinschränkungen sowie Visusverlust und Bulbusatrophie entstehen (SPIESS, 1997; GERHRDS u. WOLLANKE, 2001; WOLLANKE, 2002; WOLLANKE u. GERHRDS, 2009).

Die Therapie der Wahl ist die symptomatische Therapie. Man verabreicht lokal Mydratika (atropinhaltige Augentropfen oder -salbe), steroidale Antiphlogistika (dexamethasonhaltige Augensalbe und in schweren Fällen subkonjunktivale Injektion mit Dexamethason) und zum Teil auch Immunsuppressiva (Cyclosporin-Implantat oder -Augensalbe) und systemisch nicht-steroidale Antiphlogistika (Flunixin-Meglumin, Phenylbutazon, Meloxicam, Firocoxib oder ähnliches) und in schweren Fällen zusätzlich ebenfalls steroidale Antiphlogistika (Prednisolon) (BARNETT et al., 1995; GERHARDS u. WOLLANKE, 2006).

Es gibt verschiedene Formen der Uveitis. Man kann sie nach Ätiologie (primär, sekundär, symptomatisch), nach dem Verlauf (akut, subakut, chronisch, periodisch), nach dem am meisten betroffenen Gewebe (Iris, Ziliarkörper, Choroidea) oder nach der Qualität des Exsudats, das im Verlauf der Uveitis entsteht (serös, fibrinös, blutig, eitrig), einteilen (WOLLANKE, 2002; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

Die equine rezidivierende Uveitis nimmt eine Sonderstellung ein und soll im Folgenden näher beschrieben werden.



### 2.3.1 Equine rezidivierende Uveitis

Die equine rezidivierende Uveitis ist eine serohaemorrhagische Entzündung der Uvea, die akut auftritt und chronisch rezidivierend verläuft (GERHARDS u. WOLLANKE, 2001).

Im englischen Sprachraum wird sie als „equine recurrent Uveitis“ (ERU) bezeichnet, dies wurde mit dem bis heute verwendeten Begriff „equine rezidivierende Uveitis“ übersetzt (LAVACH, 1990; WERRY u. GERHARDS, 1991). Als frühere Bezeichnungen gelten die Begriffe „Mondblindheit“, „periodische Augenentzündung“ oder auch „rezidivierende Iridozyklitis“ (SPIESS, 1997).

ERU ist die am meisten diagnostizierte Augenerkrankung bei Pferden (SPIESS, 1997) und weltweit der Hauptgrund für die Erblindung bei Pferden (REBHURN, 1979; CARLTON, 1983; HINES, 1984; ABRAMS u. BROOKS, 1990); Die Inzidenz liegt zwischen 8 und 12% (BISTNER u. SHAW, 1980; CARLTON, 1983; SPIESS, 1997; SZEMES u. GERHARDS, 2000).

Die Erkrankung hat eine sehr große wirtschaftliche Bedeutung, da sie auf Grund der wiederkehrenden Entzündungsschübe dauerhafte Behandlung erfordert und zu starker Nutzungseinschränkung und Wertminderung der betroffenen Tiere führt (GERHARDS u. WOLLANKE, 2001; WOLLANKE, 2002; TÓTH u. HOLLRIEDER, 2010). Dennoch ist die ERU noch nicht in allen Einzelheiten erforscht. Vor allem über die Ätiologie gibt es unterschiedliche Meinungen der Autoren.

#### 2.3.1.1 Vorkommen

Bereits 1892 berichtet SCHWAZRNECKER von der ERU, damals noch als periodische Augenentzündung bezeichnet, bei Pferden der Armee.

KALISCH (1952) stellte fest, dass jüngere Pferde öfter betroffen sind als ältere, nach ZWIERZCHOWSKI (1967a) erkrankten Pferde im Alter von 1-23 Jahren, die meisten im Alter zwischen drei und elf Jahren. ALEXANDER und KELLER (1990) stellten eine Altersverteilung zugunsten von Pferden im Alter zwischen ein und vier Jahren fest. SZEMES und GERHARDS (2000) hingegen zeigten bei einer Untersuchung im Raum Köln / Bonn, dass etwa ein Drittel bis ein Viertel aller Pferde über 15 Jahren an ERU erkrankten und dass die als „Blüter“ eingruppierten Pferde weniger oft betroffen waren als Warmblüter und Ponys. DWYER et al. (1995) und ANGELOS et al. (1988) beschreiben, dass Traber, bzw. Vollblüter und Appaloosas häufiger an Uveitis erkrankten. Sie vermuten eine genetische Prädisposition als Ursache für eine schlechtere Prognose und häufigere Erblindung der Appaloosas. KALSOW und DWYER (1998) beschrieben,



dass in einem Zeitraum von sieben Jahren 39% aller untersuchten Appaloosas beidseitig erblindet waren. Bei Pferden anderer Rassen dagegen waren es nur 8%. Einseitig erblindet waren 29%, bzw 27%. In einer Untersuchung von WOLLANKE (2002) konnte festgestellt werden, dass Wallache häufiger an ERU erkranken als Stuten oder Hengste. Verschiedene Autoren bestätigen dies (KALICH, 1952; RIESE, 1974; ALEXANDER u. KELLER, 1990; WOLLANKE, 1995; SZEMES u. GERHARDS, 2000), CROSS (1966) jedoch nicht. Es zeigte sich außerdem, dass Pferde, die schon seit über einem Jahr an Uveitis erkrankt waren, häufiger eine Panuveitis zeigten und Pferde, die weniger als ein Jahr lang an Uveitis litten, eher eine intermediäre Uveitis zeigten. Generell zeigten die meisten der 637 an ERU erkrankten Pferde eine intermediäre Uveitis, wobei das rechte und das linke Auge gleich häufig betroffen waren. Allerdings erkrankte ein Viertel der Pferde im Zeitraum der Untersuchung an beiden Augen (WOLLANKE, 2002). Einige Autoren beschreiben, dass Schimmel vermehrt betroffen sind (SETINEC, 1900; TEGGE, 1954), dies konnte allerdings von HASSENKAMP (1974) und WOLLANKE (1995) nicht bestätigt werden.

SZEMES und GERHARDS (2000) geben die Prävalenz der ERU mit 7,6% an, was durchaus mit der Literatur, die Durchschnittswerte von 13% angibt (JONES, 1946; CROSS, 1966; CARLTON, 1983), übereinstimmt. Amerikanische Autoren geben eine Prävalenz von 2% bis 25% in den USA an (WITMER, 1954; SCHWINK, 1992), DWYER et al. (1995) sind nach einer Feldstudie der Meinung, dass 1% bis 2% der amerikanischen Pferde so ernsthaft erkrankt sind, sodass der Visuserhalt bedroht wird. Ebenso nennt LOWE (2010) eine Prävalenz der ERU in England von 1%, was in einer Studie von MELLOR et al. 2001 ermittelt wurde.

### 2.3.1.2 Symptome, Verlauf

Die equine rezidivierende Uveitis ist charakterisiert durch wiederkehrende Entzündungen des inneren Auges. Zwischen diesen Entzündungsschüben gibt es Ruhephasen (*quiescent periods*), während denen keine Anzeichen einer akuten Uveitis zu sehen sind. Sie variieren individuell sehr stark in ihrer Dauer, es können wenige Wochen, aber auch Monate bis Jahre zwischen den Entzündungsschüben vergehen. Nicht aus jeder initial akut auftretenden Uveitis entwickelt sich eine ERU, doch es besteht bei jeder Uveitis das Risiko, dass es sich um den ersten Schub einer ERU handelt (SPIESS, 1997; GERHARDS u. WOLLANKE, 2006; WOLLANKE u. GERHARDS, 2009; GILGER et al., 2010).

Es gibt sowohl eher schleichende Verlaufsformen, bei denen der Besitzer kaum etwas bemerkt, bis dann der Visusverlust eintritt, als auch Verlaufsformen, die durch akute, sehr schmerzhaft

Uveitisschübe gekennzeichnet sind, die der Besitzer als Notfall anmeldet. In der Regel ist der folgende Uveitisschub heftiger als der voran gegangene und die Abstände zwischen den Schüben werden mit steigender Zahl der Schübe immer kürzer. Jeder neue Schub ist schmerzhaft für das Pferd und die Strukturen des inneren Auges werden erneut geschädigt. Ohne Behandlung ist die Erblindung des Auges vorhersehbar. Je nach Schwere und Dauer des Uveitisschubes und Vorschädigung des Auges kann auch mit Behandlung der Visuserhalt oft nicht gewährleistet werden. Die Prognose ist schlecht, meist erblindet das betroffene Auge im Lauf der Zeit, zusätzlich besteht das Risiko mit 30 bis 35 %, dass auch das zweite Auge des Pferdes an ERU erkrankt (GERHARDS u. WOLLANKE, 2001; GERHARDS u. WOLLANKE, 2006; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010; GILGER u. DEEG, 2011).

Die Symptome im akuten Entzündungsschub der ERU variieren individuell in Schwere und Ausprägungsgrad. Die wichtigsten sind (GELATT, 1971, 1972; LAVACH, 1990; BARNETT et al., 1995; SPIESS, 1997; GERHARDS u. WOLLANKE 2001; WOLLANKE 2002; GERHARDS u. WOLLANKE, 2006; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010; GILGER u. DEEG, 2011;):

- deutlich ausgeprägte Abwehrtrias mit Epiphora, Photophobie, Blepharospasmus
- Rötung der Bindehäute
- Entzündungsprodukte in der vorderen Augenkammer (serös, fibrinös, haemorrhagisch, selten ein Hypopyon)
- Miosis
- Glaskörpertrübung (diffus, zellulär und / oder serös)
- Hornhauttrübung und im weiteren Verlauf auch Vaskularisation der Hornhaut
- Rubeosis iridis

Im Verlauf der ERU kommt es nach wiederholten Entzündungsschüben zu schwerwiegenden Veränderungen am Auge. Mögliche Folgen sind (WOLLANKE, 2002):

- zunehmende Glaskörperverflüssigung, -trübung und -einlagerungen (wolkig, membranös oder strangartig)
- hintere, selten vordere Synechien, Irisresiduen auf der Linsenvorderfläche
- Präzipitate auf der Linsenrückfläche
- (beginnende) Katarakt

- Linsensubluxationen, später eventuell vollständige Linsenluxation
- Sekundärglaukom
- Bildung von Netzhautfalten, chorioretinalen Narben, vollständige Netzhautablösung
- chronische Hornhautentzündungen
- Bulbusatrophie, im Enstadium Phthisis bulbi

WOLLANKE (2002) teilt die Entzündungsschübe nach beteiligten Strukturen ein. Sie unterscheidet in Anlehnung an die Humanmedizin zwischen vorderer, hinterer und intermediärer Uveitis.

Eine vordere Uveitis (Iritis oder Iridozyklitis) ist sehr schmerzhaft für das betroffene Pferd und geht mit sero-fibrinösen, seltener mit eitrigen oder sero-hämorrhagischen, Exsudationen in die vordere Augenkammer einher. Eine intermediäre (Zyklitis) oder hintere Uveitis (Choroiditis) ist weniger schmerzhaft. Tritt sie ohne Beteiligung der vorderen Augenabschnitte auf, ist der Verlauf schleichend und die Besitzer bemerken lange nichts bis zum Visusverlust. Es ist also eine Erblindung nach klinisch symptomlosem Verlauf möglich (ERRINGTON, 1941; GERHARS u. WOLLANKE, 2001; WOLLANKE, 2002).

GILGER und DEEG (2011) halten die Unterscheidung aus der Humanmedizin in vordere, intermediäre und hintere Uveitis nicht für sinnvoll, da bei der ERU meist alle Teile der Uvea im Sinne einer Panuveitis betroffen sind (ebenso GILGER, 2010).

Sie unterscheiden zwischen einmaliger und rezidivierender Uveitis. Jedes Pferd, das, unabhängig von der Ätiologie, erstmals an einer Uveitis erkrankt, hat das Risiko, dass es an ERU erkrankt ist. Man kann aber erst nach zwei oder mehr erlittenen Uveitisschüben die Diagnose einer ERU stellen. Einer einmaligen Uveitis liegt eine andere Pathophysiologie zu Grunde als der ERU (GILGER, 2010). Weiterhin unterscheiden GILGER und DEEG (2011) klinisch zwischen drei Syndromen: der klassischen ERU (*classical ERU*), der heimtückischen ERU (*insidious ERU*) und der hinteren ERU (*posterior ERU*).

Die klassische ERU kommt am häufigsten vor und ist charakterisiert durch schmerzhafte, rezidivierende Uveitisschübe, bei denen Iris, Ziliarkörper und Choroidea betroffen sind. Den unterschiedlich langen Ruhephasen folgt erneut ein schmerzhafter Schub, der in der Regel schlimmer ist als der voran gegangene. In vielen Fällen führt dies zu Synechien, Katarakt, Phthisis bulbi und Erblindung.

Bei der heimtückischen ERU handelt es sich um eine leichte (*low-grade*) innere Augenentzündung, die nicht schmerzhaft zu sein scheint. Dennoch kommt es auf Grund der sukzessiven Schädigung

der inneren Strukturen des Auges zu kumulativen Effekten und somit zu Veränderungen wie Synechien oder Katarakt im Sinne einer chronischen ERU. Am häufigsten sind Appaloosas und Kaltblüter (*draft breed horses*) betroffen.

Unter dem Begriff hinterer Uveitis versteht er die Entzündung von Glaskörper, Retina und Choroidea. Klinisch manifestiert sie sich mit Schüben von Glaskörperentzündung (*bouts of vitreal inflammation*), Glaskörpertrübung und Glaskörpereinlagerungen (*cloudiness*), Netzhautablösung und Visusverlust. Im weiteren Verlauf entwickeln die Patienten eine Katarakt, Retinadegeneration oder -Ablösung, Degeneration des Glaskörpers, eventuell mit Bildung von Strängen aus Kollagenfibrillen (*fibrous strands*). Am häufigsten betroffen sind Warmblüter, europäische Pferde und Kaltblüter.

Weiterhin unterscheidet GILGER (2010) nach der Chronizität zwischen aktiven, bzw. akuten Fällen (*active or acute*), Fällen in der Ruhephase (*quiescent*) und Fällen im Endstadium (*end-stage*). Pferde im akuten Stadium zeigen die oben beschriebenen Symptome eines akuten, schmerzhaften Entzündungsschubes. Pferde in der Ruhephase zeigen äußerlich keine Schmerzhaftigkeit, bei der speziellen Augenuntersuchung jedoch sind entweder Anzeichen einer geringgradigen inneren Augenentzündung oder aber die Folgeerscheinungen der vorangegangenen Schübe wie Synechie oder Katarakt zu erkennen. Pferde, die sich im Endstadium einer ERU befinden, sind oftmals blind, zeigen eine Phthisis bulbi, vollständige Katarakt, (Sub-)Luxation der Linse, Netzhautablösung oder variable Form- und Farbveränderungen der Iris.

### 2.3.1.3 Pathophysiologie

Bei der ERU handelt es sich zunächst um eine exsudativ eitrige Entzündung (bezogen auf das Exsudat in der vorderen Augenkammer). Recht schnell verwandelt sich dieses Bild in eine perivaskuläre, chronische (lymphoplasmazelluläre), lymphoid-nodulär proliferierende und persistierende Uveitis, die sich im Rahmen weiterer Rezidive allmählich auf Choroidea und Retina (Chorioretinitis) ausbreitet. Es entwickelt sich eine nicht-eitrige, chronische Panuveitis mit exsudativ endophthalmitischer Komponente (SCHAEFFER, 2007).

Bei einer akuten Uveitis kommt es zu Stauung der Gefäße im Bereich der vorderen Uvea, so können Entzündungszellen in die Uvea einwandern. Zuerst gelangen neutrophile Granulozyten in die Iris und den Ziliarkörper und von dort aus dann in die vordere Augenkammer, wo sie ein Hypopyon verursachen können. Relativ schnell werden die neutrophilen Granulozyten durch große Mengen an

Lymphozyten und einige Plasmazellen und Makrophagen ersetzt (GILGER u. DEEG, 2011; JONES, 1942; CARLTON, 1983). In histopathologischen Untersuchungen konnten Exsudate, die hauptsächlich aus Fibrin und Serumproteinen bestanden, auf der Oberfläche von Iris, Ziliarkörper, Ziliarkörperfortsätzen und der Linsenvorderfläche nachgewiesen werden. Des Weiteren sind in Irisstroma und Trabekelwerk sowie im Kammerwasser und im Glaskörper seröse Exsudate und zelluläre Infiltrationen zu finden. Auch im Gewebe der Konjunktiva kommt es zu Gefäßstauung und zellulärer Infiltration. Die Retina bleibt jedoch bei den ersten Schüben der ERU weitgehend unberührt (GILGER u. DEEG, 2011).

Durch die Entzündungsreaktion kommt es zu einem Zusammenbruch der Blut-Glaskörper-Schranke; somit kann Serum in den Glaskörperraum eindringen. Möglicherweise entsteht so die diffuse gelbliche Glaskörpertrübung. Im weiteren Verlauf dringen Entzündungszellen in den Glaskörperraum ein und die Folge ist Verflüssigung und Schrumpfung des Glaskörpers (BRANDES et al., 2007).

Je mehr Schübe das Auge erleidet und je chronischer der Krankheitsverlauf wird, desto mehr organisieren sich die eingewanderten Lymphozyten zu Lymphfollikeln im Ziliarkörper und in der Basis der Iris. Im Zentrum dieser „Lymphknoten“ (*lymphocytic nodules*) befinden sich B-Lymphozyten, in der Peripherie dagegen T-Lymphozyten. Die an der diffusen Gewebsinfiltration beteiligten Lymphozyten wurden als T-Lymphozyten klassifiziert (KALSOW u. DWYER, 1998; ROMEIKE et al., 1998; Gilger u. DEEG, 2011). Auch in der Konjunktiva befinden sich solche Lymphfollikel im Bereich nahe am Limbus. Es wird diskutiert, ob diese Lymphfollikel für die wiederkehrenden Schübe verantwortlich sein könnten, indem immunologisch geprägte Zellen schon nach dem ersten Schub im Auge zurückbleiben könnten. Obwohl T-Lymphozyten die Entzündungsreaktion dominieren, sind sowohl in intraokularem Gewebe als auch im Serum Autoantikörper (gegen IRBP (*interphotoreceptor retinoid binding protein*), und CRALBP (*cellular retinaldehyde-binding protein*); s. a. 21 und S. 40) nachweisbar (GILGER u. DEEG, 2011). Sowohl bei Augen im Ruhestadium der ERU als auch bei solchen mit Phthisis bulbi besteht eine subakute Entzündungsreaktion (JONES, 1942).

KALSOW u. DWYER (1998) beschreiben außerdem, dass die Retina von Pferden, die an Uveitis erkrankt waren, mit T-Lymphozyten sowie runden und dendritiformen MHC Klasse II positiven Zellen infiltriert waren. Mit zunehmender Schädigung der Retina stieg auch die Zahl der infiltrierenden Zellen. Es konnte keine gesteigerte Aktivität der retinalen Pigmentepithelzellen und der Müller-Zellen nachgewiesen werden. Diese Veränderungen konnten ebenso an Präparaten von

Augen von Ponys festgestellt werden, bei denen experimentell mit Leptospiren eine Uveitis induziert wurde (WILLIAMS et al., 1971; KALSOW u. DWYER, 1998; BOLTE, 1996). Bei gesunden Augen aus der Kontrollgruppe konnten keine dieser Veränderungen festgestellt werden. B-Lymphozyten konnten nur in Augen von Pferden nachgewiesen werden, die an einer Uveitis litten und gleichzeitig seroreaktiv gegenüber *Leptospira interrogans* Serovar pomona waren. Die Autoren gehen von einem postinfektiösen immunologischen Geschehen aus.

ROMEIKE et al. (1998) konnten in eigenen histopathologischen Untersuchungen vergleichbare Ergebnisse erzielen: Unter den infiltrierenden Entzündungszellen in Augen von an ERU erkrankten Pferden dominierten CD3 positive T-Lymphozyten (ihr Anteil betrug bei 16 von 18 Augen mehr als 70%) und es konnten nur wenige B-Lymphozyten beobachtet werden. Diese befanden sich bei drei von 18 Augen vor allem im Zentrum der oben bereits erwähnten Lymphfollikel. Bei Augen, bei denen eine Phthisis bulbi bestand, konnten nur wenige Entzündungszellen nachgewiesen werden. Die Expression von MHC Klasse II-Molekülen war verringert im Vergleich zu den erkrankten Augen, noch keine Phthisis bulbi zeigten. Dort war die Expression von MHC Klasse II-Molekülen im Kammerwinkel, im Trabekelwerk und im nicht-pigmentierten Ziliarkörperepithel am größten und war assoziiert mit der Infiltration von Entzündungszellen.

Auf Grund der veränderten Expression von MHC Klasse II-Molekülen gehen die Autoren von einer anormalen Immunantwort aus. Weiterhin beschreiben sie die Möglichkeit, dass die Uveitisschübe nicht nur durch ein bestimmtes Antigen immer wieder neu ausgelöst werden, sondern, dass viele verschiedene Antigene in der Lage sind, einen Uveitisschub auszulösen, wenn sie auf Grund einer nicht mehr funktionsfähigen Blut-Augen-Schranke ins Augeninnere gelangen.

In der Untersuchung von LOIBL (2009) konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Pferden, die an ERU erkrankt waren, und augengesunden Pferden im Hinblick auf den Gehalt an Leptospiren-Antikörper im Serum, insbesondere bei IgG, festgestellt werden. Sie geht von einer veränderten systemischen humoralen Immunantwort aus.

GILGER et al. (1999) stellten bei der histopathologischen Untersuchung von Iris und Ziliarkörper bei sieben Augen, die Veränderungen im Sinne einer chronischen ERU zeigten, fest, dass es sich bei den Entzündungszellen um Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen handelte. Die meisten Zellen konnten im Ziliarkörper und der Irisbasis gefunden werden, die stärkste Gewebszerstörung dagegen in den Ziliarkörperfortsätzen. Die Lymphozyten waren größtenteils (48%) CD4 positive T-Zellen, und zum geringeren Teil (18%) waren es CD8 positive T-Zellen. Weiterhin konnte eine im



Vergleich zu gesunden Augen gesteigerte Sekretion der Mediatoren IL-2 und IFN  $\gamma$  sowie eine geringere Sekretion von IL-4 beobachtet werden. Sie schlossen aus diesen Ergebnissen, dass es sich um eine durch T-Helfer- (Th1-) Zellen mediierte Immunantwort im Gewebe der Uvea handelt. Sie gingen nicht von einer systemischen, sondern von einer lokalen Immunantwort im Auge aus. Außerdem vermuteten sie, dass die Th1-Zellen spezifisch zum Auge rekrutiert werden. Da sich naive T-Zellen nach Kontakt mit intrazellulären Proteinen oder Organismen wie Bakterien oder Viren in Th1-Zellen differenzieren, die Autoren in der histologischen Untersuchung der Präparate aber ebenso wie ihre Vorgänger nichts derartiges als Auslöser finden konnten, vermuteten sie eine immunmedierte Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ gegenüber Autoantigenen in der Uvea. GILGER et al. (2002) diskutierten weiterhin über eine mögliche Beteiligung des Ziliarkörperepithels bei der Rekrutierung und der Aktivierung von Lymphozyten, da sie dort die gesteigerte Expression von sog. RANTES („*regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted*“) nachweisen konnten. RANTES sind Zytokine, also Proteine, die auf Lymphozyten und Monozyten chemotaktisch wirken. Zytokine können Entzündungsreaktionen initiieren und aufrechterhalten.

ROMEIKE et al. (1998) beschrieben ebenfalls, dass T-Lymphozyten die Entzündungsreaktion dominieren, und charakterisieren dies als Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ. Weiterhin sind sie der Meinung, dass die Anwesenheit von B-Lymphozyten auf eine intraokulare Antikörperproduktion schließen lässt. HALLIWELL u. HINES (1985) hingegen sind der Meinung, dass die Antikörper auf Grund des Zusammenbruchs der Blut-Kammerwasser-Schranke in das Auge gelangen. EULE et al. (2000) und LOIBL (2009) gehen ebenso wie ROMEIKE et al. (1998) von einer lokalen Antikörperproduktion im Auge aus, da sie bei an ERU erkrankten Pferden deutlich erhöhte IgM-Titer nachweisen konnten. Die Serumimmunglobuline von erkrankten Pferden und ausgehenden Pferden unterschieden sich dagegen nicht. WOLLANKE (2002) bestätigte im Rahmen einer Untersuchung von Kammerwasser und Serum von Pferden, die an ERU erkrankt waren, bei 94% der 48 untersuchten Patienten eine intraokulare Antikörperproduktion gegen Leptospiren mittels Bildung eines modifizierten Goldmann-Witmer-Koeffizienten. Weiterhin lag der Antikörpertiter in den intraokularen Proben immer um ein Vielfaches höher als der Antikörpertiter im Serum (WOLLANKE et al., 1998; BREM et al., 1999; WOLLANKE, 2002). Zudem gelang der kulturelle Nachweis von Leptospiren aus Glaskörperproben von an ERU erkrankten Pferden (BREM et al., 1999; WOLLANKE et al., 2001).

Als Folge dieser Entzündungsreaktionen verdicken sich das Epithel des Ziliarkörpers und die

Wände der Blutgefäße der Uvea und es kommt zu weiterer Exsudation. Histopathologisch lassen sich drei charakteristische Veränderungen am Ziliarkörper nachweisen: Zum ersten eine dichte, zellfreie, hyaline Membran, die der Innenseite des nicht-pigmentierten Epithels des Ziliarkörpers eng anliegt, zum zweiten eosinophile, lineare Einschlüsse im Zytoplasma der Zellen des nicht-pigmentierten Ziliarkörperepithels und zum dritten Ansammlungen von Lymphozyten und Plasmazellen direkt im nicht-pigmentierten Epithel des Ziliarkörpers sowie der hinteren Iris (COOLEY et al., 1990; DUBIELZIG et al., 1997; GILGER, 2010). DUBIELZIG et al. (1997) schrieben, dass das Material, das als eosinophile hyaline Membran beschrieben worden war, im apikalen Zytoplasma des nicht-pigmentierten Ziliarkörperepithel liegt und Amyloid ähnelt, da es in der Kongo-Rot-Färbung rot und unter polarisiertem Licht grün erschien. Weiterhin beschrieben die Autoren, dass es sich in der Masson-Trichrom-Färbung blau darstellte und mit Hilfe des Elektronen-Mikroskops feine Filamente darstellbar waren. Obwohl die Stärke der Filamente typisch für Amyloid war, erinnerten die regelmäßigen Verzweigungen der Filamente an Kollagen-Fasern. Somit schließen die Autoren, dass dieses amorphe zellfreie Material sowohl Eigenschaften von Amyloid als auch von Kollagen-Fasern besitzt. Die Autoren (DUBIELZIG et al., 1997) sehen das Vorhandensein dieser Membran und das Vorkommen der Einschlüsse im Zytoplasma als charakteristische Veränderung im Verlauf einer ERU an.

Im Verlauf der Erkrankung kommt es schließlich zu Veränderungen am Glaskörper sowie an Choroidea und Retina. Auf Grund der Zellinvasion in den Glaskörper entstehen, wie bereits in Kapitel 2.1.6.2.2 *Glaskörpertrübung* unter 3. *Zellinvasion in den Glaskörper im Rahmen einer Entzündung* beschrieben, Glaskörperverflüssigung, diffuse und fokale Glaskörpertrübungen, bedingt durch Aggregation von Entzündungszellen, vor allem T-Lymphozyten, mit den Kollagenfibrillen (HOGAN, 1975; SEBAG, 1989; DEEG et al., 2001; NIEDERMAIER, 2002). Neben fokaler Hypertrophie und Degeneration der Retina kommt es auch hier zu einer Infiltration von T-Lymphozyten, besonders in den Bereichen, die an den Ziliarkörper oder an den Discus nervi optici angrenzen. Die Folge dieser entzündlichen Reaktionen ist eine Netzhautablösung und eine damit einhergehende Erblindung des Patienten (GILGER u. DEEG, 2011).



#### 2.3.1.4 Ätiologie

Seit einigen Jahren ist die Ätiologie der klinisch typisch verlaufenden ERU geklärt: WOLLANKE stellte 2002 in umfangreichen Untersuchungen fest, dass bei Pferden, die an ERU leiden, der in Kammerwasser und im Glaskörper bestimmte Leptospiren-Antikörpertiter signifikant höher war als bei Pferden, die nicht an ERU leiden. In 90 % der Glaskörperproben von erkrankten Pferden konnten positive Antikörper-Titer mittels MAR (Miktoagglutinationsreaktion) nachgewiesen werden, in 70% der Proben konnte mittels PCR Leptospiren-Antigen nachgewiesen werden und aus über 50% der Proben konnten Leptospiren angezüchtet werden. Sie sieht als Ursache der ERU ganz klar die intraokulare Leptospireninfektion, die auch zur lokalen Antikörperproduktion führt. Auf Grund der Persistenz der Leptospiren kommt es zu den Rezidiven (WOLLANKE et al., 1998; BREM et al., 1998; WOLLANKE et al., 2001; WOLLANKE, 2002). WOLLANKE (2002) zeigt Mechanismen auf, die die intraokulare Persistenz der Leptospiren bewirken könnten: Zum einen immunologische Mimikri, was bedeutet, dass die Infektionserreger, wie zum Beispiel auch die Leptospiren, nicht erkannt werden, weil sie Oberflächenantigene besitzen, die auch im Körper des Patienten vorkommen und deshalb vom Immunsystem nicht als fremd erkannt werden. Zum anderen könnten sich die Leptospiren intrazellulär in Hyalozyten (entweder dringen sie aktiv in die Zellen ein oder werden von den Zellen phagozytiert) befinden und sich so der Immunabwehr entziehen. Die Leptospiren könnten auch von einem Konglomerat aus Kollagenfibrillen und Entzündungsprodukten (Fibrin) umgeben sein und deshalb der Immunabwehr teilweise oder sogar ganz entgehen. Außerdem findet im Auge physiologischerweise eine Suppression der T-Zell-Reaktionen statt, was dazu führen könnte, dass die Immunabwehr nicht ausreichend aktiviert wird. Sie beurteilt die begleitenden Autoimmunreaktionen als Epiphänomene der intraokularen Leptospireninfektion. Die Persistenz der Leptospiren-Antigene im Auge stört das intraokulare immunologische Gleichgewicht derart, dass Autoimmunreaktionen, die unter physiologischen Bedingungen supprimiert werden, stattfinden können und eine Überempfindlichkeitsreaktion entsteht. Die Tatsache, dass nach einer Vitrektomie, bei der der Glaskörper durch sterile BSS (Balanced Salt Solution)-Lösung ersetzt wird, in der Regel keine weiteren Schübe mehr auftreten, deutet sie als starken Hinweis dafür, dass durch die intraokulare Persistenz der Leptospiren die Rezidive ausgelöst werden (WOLLANKE, 2002).

Eine asymptomatische Besiedelung des Glaskörpers von Leptospiren in ophthalmologisch gesunden Augen scheint es nicht zu geben (GESELL, 2004). Auch LOIBL (2009) konnte bei keinem der Pferde, die als augengesund eingestuft worden waren, mittels PCR Leptospiren-Antigen oder

mittels MAR und ELISA Leptospiren-Antikörper nachweisen.

SPIESS beschreibt 1997 die allgemein akzeptierte Hypothese wie folgt: Es sei eine immunassoziierte Erkrankung verschiedenster Ursachen, welche sich durch rezidivierende Überempfindlichkeitsreaktionen vom verzögerten Typ in variablen Abständen manifestiert. Viele Mikroorganismen wurden im Laufe der letzten 100 Jahre ursächlich mit ERU in Zusammenhang gebracht, aber nur Leptospiren konnten regelmäßig nachgewiesen werden (SPIESS, 1997).

Bereits 1900 vermutete BAYER eine infektiöse Ätiologie, er beschrieb die Uveitis als eine durch Mikroorganismen bedingte nicht-eitrige Panophthalmitis. Erreger und Infektionsweg waren zwar noch unklar, aber die These der infektiösen Ätiologie wurde von verschiedenen Autoren bestätigt (FRÖHNER, 1910; MÖLLER, 1910; FRÖHNER u. EBERLEIN, 1920).

WOODS und CHESNEY gelang es 1931, ein filtrierbares Agens aus Flüssigkeiten und Gewebe von Pferdeaugen, die an akuter Uveitis litten, zu gewinnen und in gesunde Pferdeaugen zu verbringen, die darauf folgend an Uveitis erkrankten. Da sie aus den kranken Augen keine Bakterien anzüchten konnten und in der histologischen Untersuchung keine neutrophilen Granulozyten finden konnten, gingen sie von einer Virusinfektion aus.

Im Laufe des letzten Jahrhunderts gab es zahlreiche Vermutungen zur Ätiologie der ERU: Man nahm an, dass die ERU eine Erbkrankheit sei (CROSS, 1966), dass sie in Zusammenhang mit einer B2-Avitaminose stehe (JONES et al., 1946), oder dass es sich um eine anaphylaktische Reaktion handelt (ROSSI u. KOLLOCHINE-ERBER, 1952). Alle diese Vermutungen erwiesen sich als nicht haltbar. Auch ein Zusammenhang der ERU mit der Borreliose und Toxoplasmose konnte nicht nachgewiesen werden (WOLLANKE, 2002). Ebenso konnte kein Zusammenhang mit Brucellose festgestellt werden (WOLLANKE, 1995).

HEUßER (1948) untersuchte Pferde serologisch auf Leptospiren-Antikörper und stellte fest, dass die Agglutinationsreaktion bei Pferden mit periodischer Augenentzündung im akuten oder subakuten Stadium, ausgenommen ganz zu Beginn der Erkrankung, immer positiv, bei den Kontrolltieren (Pferde ohne Augenerkrankung) jedoch nur in 16% der Fälle positiv ausfiel. Er stellte fest, dass der Titer bei einer akuten Erkrankung ansteigt bis die Reaktion stark positiv ausfällt, dann wieder absinkt und bei einem Rezidiv erneut ansteigt. Obwohl er keine Leptospiren nachweisen konnte, war er der Meinung, dass eine Leptospireninfektion die Ursache der ERU sei. YAGER et al. (1950) führten ebenfalls serologische Untersuchungen durch und konnten Heußers Ergebnisse bestätigen. Außerdem stellten HEUßER et al. (1948) fest, dass bei akuter Uveitis der Antikörpertiter im Kammerwasser höher ist als der im Blut.

ROBERTS et al. (1952) berichteten von einem Ausbruch von Leptospirose auf einer Farm in der Nähe von Ithaca, New York. Es erkrankten fünf Pferde an einer Septikämie, eins davon auch an Uveitis, eine Stute erlitt eine Frühgeburt, zwei weitere Pferde erkrankten an rezidivierender Uveitis. Bei all diesen Pferden wurde entweder während der akuten Phase oder sechs bis sieben Wochen danach ein positiver Leptospiren-Antikörpertiter festgestellt. Von weiteren zehn Pferden, die nicht akut erkrankten, wiesen drei einen positiven Leptospiren-Antikörpertiter auf. Die Autoren sahen die Leptospireninfektion als Ursache der Erkrankungen an. Aus dem Blut der erkrankten Tiere konnten Leptospiren isoliert und auf gesunde Tiere übertragen werden, diese zeigten eine Septikämie und einen positiven auf Leptospiren-Antikörpertiter. 1958 berichteten die Autoren über den weiteren Verlauf: insgesamt entwickelten fünf Pferde eine Uveitis, ein experimentell infiziertes Pferd zeigte einmalig eine Uveitis.

HARTWIGK u. STOEbbe (1952) konnten Leptospiren aus dem Kammerwasser von einem an Uveitis leidenden Pferd kulturell isolieren.

Auch HEUßER (1952) war der Meinung, dass die periodische Augenentzündung als Spätfolge der allgemeinen Leptospireninfektion anzusehen sei. Er konnte durch extraokuläre Verabreichung einer Leptospirenkultur bei zwei Fohlen eine akute Iridozyklitis auslösen.

GSELL et al. (1946) beschrieben einen Fall der sog. Schweinehüterkrankheit, einer Meningitis des Menschen, die durch Leptospiren ausgelöst wird, bei der der Patient 12 Wochen nachdem die Symptome der Meningitis abgeklungen waren, eine Iridozyklitis entwickelte. Da nicht wie bei einer akuten Iridozyklitis vermehrt Leukozyten, sondern sowohl in der vorderen Augenkammer als auch im Liquor vor allem Lymphozyten bei fehlenden Leukozyten nachgewiesen werden konnten, gingen die Autoren davon aus, dass es sich auch um die gleiche Ätiologie, nämlich die Infektion mit Leptospiren, handelte.

WITMER et al. (1954) berichten, dass die Antikörper gegen Leptospiren, die im Kammerwasser nachgewiesen wurden, im Auge produziert werden. Sie führen diese lokale Antikörperproduktion auf eine lokale Leptospirose im Auge zurück (ebenso WITMER, 1955).

EULE et al. (2000) führen an, dass es sich um eine lokale Antikörperproduktion handeln kann, dass aber weiterhin die Möglichkeit besteht, dass die Antikörper aus dem Blut auf Grund des entzündungsbedingten Zusammenbruchs der Blut-Kammerwasser-Schranke ins Auge gelangen können. HALLIWELL u. HINES (1985) nehmen an, dass die Antikörper eher über die nicht mehr intakte Blut-Kammerwasser-Schranke ins Auge gelangen, als dass sie im Auge selbst produziert werden.

BRYANS (1955) konnte bei experimenteller Infektion von sechs Pferden mit Leptospiren immer eine Allgemeinerkrankung, einhergehend mit Fieber, Apathie, Leukozytose, mildem Ikterus und

Bilirubinämie, jedoch in keinem Fall eine Uveitis auslösen. Er berichtet außerdem ebenfalls von einem Ausbruch von Leptospirose, bei dem im weiteren Verlauf zwei Pferde an Uveitis erkrankten. SOVA (1964 und 1965) untersuchte 1000 Pferde serologisch auf Leptospiren-Antikörper. In der Gesamtpopulation waren 25% positiv, bei den Pferden mit Augenveränderungen waren 93% der Patienten positiv. Auch er war der Meinung, dass die ERU als Spätfolge einer Allgemeininfektion mit Leptospiren anzusehen sei und dass die Leptospiren auf dem Blutweg ins Auge gelangen. WILLIAMS et al. (1971) infizierten neun Ponys experimentell mit Leptospiren. Bei 61% der Augen konnten Veränderungen im Sinne einer ERU festgestellt werden. Die Autoren nehmen an, dass die Augenentzündungen entweder die Folge leptospiren-bedingter Gefäßschädigung sind oder aber die Folge von Immunreaktionen, die auf Grund ähnlicher Oberflächenantigene von Leptospiren und Strukturen im inneren Auge dort ablaufen, sind.

Sowohl BISTNER u. SHAW (1980) als auch HINES (1984) gaben an, die Ätiologie der ERU bliebe in der Regel ungeklärt. MATTHEWS (1987) beschreibt bei seinen Untersuchungen, dass eine Infektion mit Leptospiren in England keine große Rolle bei der Ätiologie der ERU spielt.

LOIBL (2009) konnte bei der Untersuchung von Kammerwasser und Glaskörpermaterial am häufigsten Immunglobuline der Klasse A (IgG A-Antikörper gegen Leptospiren) nachweisen und schreibt ihnen eine wichtige Rolle in der Immunologie und der Pathogenese der ERU zu. Sie geht davon aus, dass die Leptospiren im Kammerwasser bei ausreichend starker Immunantwort leichter eliminiert werden können als im Glaskörper. Sie schlussfolgert, dass, obwohl die Leptospiren mit ihrer intraokularen Persistenz eine lokale Antikörperproduktion auslösen, sie nicht eliminiert werden können, sondern zusätzlich schwere Schäden am Auge entstehen.

HALLIWELL et al. (1985) untersuchten ebenfalls Kammerwasser, Glaskörpermaterial und Serum von Pferden, die an Uveitis erkrankt waren und von Pferden, die aus anderen Gründen geschlachtet wurden; mittels ophthalmoskopischer Untersuchung vor der Tötung wurde zwischen augengesunden und Pferden mit Augenveränderungen unterschieden. Sie stellten fest, dass nicht alle Pferde, bei denen Antikörper gegen Leptospiren serologisch nachweisbar waren, an Uveitis erkrankt waren. Den Autoren stellte sich die Frage, wann ein Pferd als Folge einer systemischen Infektion mit Leptospiren an ERU erkrankt. Sie sehen die Infektionsdosis, den Infektionsweg und die Pathogenität des Erregers als mögliche Faktoren, die die Manifestation am Auge beeinflussen. Auch DWYER et al. (1995) nehmen an, dass Infektionsdruck und Infektionsdosis eine Rolle bei der Entstehung der ERU spielen. WOLLANKE et al. (2004) geben ebenfalls an, dass Virulenz und

Erregerzahl sowie eine eventuelle systemische Immunsuppression auf Grund anderer Infektionen oder Stress des betroffenen Pferdes eine Rolle spielen bei der Frage, ob sich die Leptospiren im Auge ansiedeln oder ob sie vollständig eliminiert werden können.

KALSOW u. DWYER (1998) geben drei Möglichkeiten der Pathogenese an: Die Entzündung resultiert (1) aus der direkten Toxizität des Erregers im Auge, (2) aus einer lokalen Immunreaktion auf den Erreger im Auge oder (3) aus einer Autoimmunreaktion auf intraokulares Gewebe. Es sei nicht klar, welche Rolle die Pathogenität der Leptospiren und welche Rolle die Immunantwort spielt. Die Autoimmunreaktion könnte durch eine Kreuzreaktivität der Immunantwort auf Leptospiren-Antigenen und intraokularem Geweben bedingt sein oder aber auch dadurch, dass Zellen während des Entzündungsprozesses Autoantigene sezernieren. Nach den Autoren sprechen die Infiltration mit Lymphozyten und Plasmazellen sowie die gesteigerte Expression von MHC Klasse II-Molekülen von einwandernden und von im Auge residierenden Zellen für eine immunologische Pathogenese (*immun mediated event*). Eine Autoimmunreaktion könnte entstehen, wenn eine Kreuzreaktion der Antikörper gegen Leptospiren und körpereigenem Gewebe im Auge bestünde. Dies wird untermauert durch autoreaktive Antikörper gegen retinale Proteine, die bereits im Serum und im Kammerwasser von an Uveitis erkrankten Pferden nachgewiesen werden konnten (KALSOW u. DWYER 1998; HINES u. HALLIWELL, 1991; MAXWELL et al., 1991). So wisse man zur Zeit nur, dass die an Uveitis erkrankten Pferde sowohl Antikörper gegen Leptospiren als auch Antikörper gegen retinale Proteine besitzen. Nach HINES und HALLIWELL (1991) wäre es möglich, dass auf Grund einer Schädigung des Auges, zum Beispiel durch ein Trauma oder eine Infektion, eine autoimmune Reaktion ausgelöst wird, bei der sich Autoantikörper (gegen S-Antigen) ins Kammerwasser gelangen und eine chronische Uveitis unterhalten.

PARMA et al. (1992) stellten eine Ähnlichkeit zwischen Leptospiren- und Kornea-Antigenen fest und zeigten, dass die Anti-Leptospiren-Antikörper in vitro auch an die Kornea binden, das Komplement-System aktivieren und so zur Gewebeschädigung führen können. Später wurde festgestellt, dass die oben genannten dieser Antigene bei den Leptospiren intrazellulär vorkommen und die kreuzreagierenden Antikörper nicht mit intakten Leptospiren reagieren (PARMA, 1997).

WERTS et al. (2001) beschrieben, dass die Leptospiren über den TLR2-Rezeptor (Toll-like Rezeptor 2) Makrophagen und somit das Immunsystem aktivieren. Weiterhin berichteten WERTS et al. (2010), dass die B-Zellen eine zentrale Rolle bei der Elimination der Leptospiren spielen.

DROMMER et al. (1996) führen an, dass die Uvea in vielerlei Hinsicht wie eine Art regionärer

Lymphknoten des Auges fungiere. Sie gingen ebenso wie SILVERSTEIN (1974) davon aus, dass es sich bei den Zellen, die im Verlauf einer primären Uveitis in die Uvea einwandern, um einen Querschnitt der gesamten Immunzellpopulation mit samt der bis dahin gesammelten immunologischen Erfahrung des Wirts handelt. Da das Immunsystem Immunzellen gegen „jedes potentielle Antigen“ besitzt und sich nun all diese Zellen in der Uvea ansiedeln könnten, wäre es möglich, dass im Rahmen einer Infektion oder ähnlichem zufällig ein „passendes Antigen“ eine erneute Immunantwort auslöst, was dann in einer Uveitis resultieren könnte. Es wäre also möglich, dass Rezidive der ERU durch ein völlig anderes Antigen ausgelöst werden (DROMMER et al., 1996).

DEEG et al. (2008) hingegen sehen die ERU als T-Zell medierte Autoimmunerkrankung, Leptospiren als mögliche Auslöser der ERU werden nicht erwähnt. Sie identifizierten verschiedene Autoantigene, wie S-Antigen, IRBP (*interphotoreceptor retinoid binding protein*), Recoverin, MDH (*Malat Dehydrogenase*) und CRALBP (*cellular retinaldehyde-binding protein*) (DEEG, 2002; 2008; 2009) und autoreaktive T-Zellen, die spezifisch gegen retinale Antigene gerichtet waren (DEEG et al., 2001). Weiterhin stellten sie fest, dass die den Glaskörper infiltrierenden Zellen von CD4+-T-Lymphozyten dominiert werden. Bei diesen Untersuchungen wurde verdünntes und gefiltertes Glaskörpermaterial von an ERU erkrankten Pferden verwendet. Der im Filter verbliebene Rest wurde nicht ausgewertet, sondern nur die Teile der Probe, die den Filter passieren konnten. In histopathologischen Untersuchungen stellten sie fest, dass die Retina immer mit betroffen und geschädigt war (DEEG et al., 2002). Bei experimenteller Injektion von Malat-Dehydrogenase konnte keine Uveitis ausgelöst werden, mit S-Antigen konnte nur in einem Fall eine einmalige Uveitis ausgelöst werden. Bei beiden konnte eine spezifische Autoimmunantwort bei den Pferden ausgelöst werden (überprüft mit in vitro Stimulation der Lymphozyten), jedoch konnten die autoreaktiven T-Lymphozyten die Blut-Augen-Schranke nicht überwinden. CRALBP und IRBP erwiesen sich als uveitogen. Die Pferde, die vorberichtlich bereits schon mindestens einmal an Uveitis erkrankt waren, entwickelten nach der zweiten Injektion eine einmalige Uveitis und nach jeder weiteren Verbreichung des Antigens erneut eine einmalige Uveitis. Nur ein Pferd zeigte nach der zweiten Injektion mehrere Schübe einer Uveitis (DEEG et al., 2002). Die Entstehung der ERU und das Auftreten der Rezidive lassen sich nach Meinung der Autoren durch folgende Mechanismen erklären: „molekular mimicry“, „bystander activation“ und „epitope spreading“ (DEEG et al., 2006), die sowohl einzeln als auch in Kombination vorkommen können; sogar gegenseitige Interaktion sei möglich.

Unter „molekular mimikry“ versteht man, dass ein körpereigenes Antigen als fremd erkannt wird,



weil es ähnliche Oberflächenantigene aufweist wie das körperfremde Antigen, das mit der Entzündungsreaktion eliminiert werden soll. Durch die ähnlichen Oberflächenantigene werden autoreaktive T-Lymphozyten aktiviert und es können sogar Gedächtniszellen entstehen (WUCHERPFENNIG, 2001). Es kann auch dann zu „molekular mimikry“ kommen, wenn Erreger sich mit wirtseigenem Material maskieren und dadurch vom Immunsystem nicht erkannt werden können. Bei elektronenmikroskopischer Betrachtung des Glaskörpers waren die Leptospiren-ähnlichen Strukturen von einer feinkörnige Masse umgeben. Es wird diskutiert, ob es sich dabei um eine Schutzschicht aus wirtseigenen Proteinen handelt, wie sie bei Leptospiren im Urin von Dauerausscheidern anzutreffen ist (NIEDERMAIER, 2002). „Bystander activation“ bedeutet, dass während einer Immunreaktion gegen ein vorhandenes Fremdantigen zusätzlich T-Zellen aktiviert werden, die eine Reaktion gegen ein anderes Antigen starten (EHL et al., 1997). „Epitope spreading“ bezeichnet das Phänomen der neoreaktiven T-Zellaktivität. Dies entsteht, wenn im Rahmen einer Entzündungsreaktion mit Gewebszerstörung neue kryptische Epitope entstehen und den T-Zellen präsentiert werden. Es kann sowohl ein neues Epitop des bereits angegriffenen Proteins neu präsentiert werden (*intramolekular epitope spreading*) als auch ein Epitop eines neuen Proteins (*intermolekular epitope spreading*). „Epitope spreading“ spielt vor allem eine Rolle bei chronischen Infektionen des betroffenen Organs oder im chronischen Stadium einer Autoimmunerkrankung (WUCHERPFENNIG, 2001).

MAXWELL et al. (1991) hingegen stellten bei ähnlichen Untersuchungen (Untersuchung des Serums in vitro) fest, dass es bezüglich der humoralen Antwort auf retinale Proteine keinen statistisch signifikanten Unterschied gibt zwischen gesunden Pferden und Pferden, die an ERU erkrankt sind. Sie sind der Meinung, dass es keinen Zusammenhang gibt zwischen dem Vorhandensein von Autoantikörpern gegenüber S-Antigen und dem Auftreten einer ERU.

SCHAEFFER (2007) schreibt, dass die „Leptospiren-Ätiologie“ als gesichert gilt, da verschiedene Leptospirenserovare während der Bakteriämie die Blut-Augen-Schranke überwinden können, wobei der genaue Mechanismus bisher unbekannt ist. Weiterhin ist unklar, wie genau die Autoimmunreaktionen ausgelöst werden und wie es möglich ist, dass gleichzeitig Leptospiren-Antigen und -Antikörper, im Auge nachzuweisen sind.

BRANDES et al. (2007) konnten mittels Transmissions-Elektronenmikroskop Spirochäten in Glaskörpermaterial von an ERU erkrankten Pferden darstellen. Aus den selben Proben konnten mittels PCR Leptospiren-Antigen, mittels MAR positive Leptospiren-Antikörper-Titer

nachgewiesen werden und in der Kultur konnten Leptospiren angezüchtet werden. Folglich gehen die Autoren von einer persistierenden Leptospireninfektion im Auge als Ursache der ERU aus. Auf Grund der Tatsache, dass im Glaskörpermaterial aus erkrankten Augen sowohl Antikörper gegen Leptospiren als auch Leptospiren-Antigen nachgewiesen werden konnte, nehmen sie an, dass die Antikörper nicht in der Lage sind, alle Leptospiren zu eliminieren. Die Spirochäten, die mittels Transmissions-Elektronenmikroskops beobachtet werden konnten, waren umgeben von einer unterschiedlich dicken osmophilen Protein-Hülle (*osmiophilic protein coat*). Diese Hülle könnte aus Opsonierungsfaktoren bestehen, die die Phagozytose beschleunigen. Im Experiment werden Leptospiren jedoch mit und ohne Opsonierung gleich schnell phagozytiert. Es wäre auch möglich, dass die Hülle aus wirts-eigenen Proteinen (*host protein*) besteht und die Bakterien dadurch maskiert werden. Dieses Phänomen könnte dafür verantwortlich sein, dass die Bakterien von den zweifelsohne vorhandenen Antikörpern nicht eliminiert werden können. Es konnte jedoch keine der beiden Hypothesen von den Autoren eindeutig bestätigt werden. (BRANDES et al., 2007).

Auch die Frage nach der Ursache oder dem Auslöser der Rezidive kann nicht eindeutig beantwortet werden. Es wäre möglich, dass bei bestehender Persistenz der Leptospiren im Auge ein erneutes Wachstum der Bakterien ein Rezidiv auslöst. Ebenso könnte aber auch eine lokale Superinfektion Auslöser eines erneuten akuten Schubs der ERU sein (BRANDES et al. 2007). In der Ruhephase wäre denkbar, dass die Leptospiren entweder Moleküle auf ihrer Oberfläche verändern oder Zysten-ähnliche Strukturen ausbilden und sich darin zurückziehen um sich so den Abwehrmechanismen des Immunsystems zu entziehen (BRANDES et al. 2007). WOLLANKE (2002) stellt vergleichbare Überlegungen zur Pathogenese an.

Zusammenfassend ist der Literatur zu entnehmen, dass es sich bei der ERU um eine Folge einer intraokular persistierenden Leptospiren-Infektion handelt, da in jedem Krankheitsstadium Leptospiren aus den Augen angezüchtet werden konnten und nach der Vitrektomie, bei der sowohl die Leptospiren als auch die Entzündungsprodukte aus dem Auge entfernt werden (Infektion wird beseitigt), keine Entzündungsschübe mehr auftreten (WOLLANKE, 2002). Nicht restlos geklärt ist die Frage nach dem Auslöser der rezidivierenden Schübe.



### 2.3.1.3 Therapie

Die Behandlung einer akuten Uveitis muss schnell, intensiv und konsequent erfolgen, um irreversible Folgeerscheinungen wie Synechie oder Katarakt möglichst zu vermeiden. Zuerst sollte überprüft werden, ob die Hornhaut intakt ist. Mit lokal verabreichten Mydriatika muss die Pupille weit gestellt werden, um Schmerzen zu lindern, hintere Synechien, Irisresiduen auf der Linsenvorderfläche und eine Katarakt zu vermeiden. Mittel der Wahl ist Atropin, das als 1%ige Augentropfen oder Augensalbe appliziert werden kann. Man verabreicht Atropin nach Wirkung, wenn nötig initial stündlich, bei maximaler Mydriasis zwei mal täglich oder in noch größeren Abständen. Wenn die Gabe von Atropin nicht zum Erfolg führt, kann einmalig eine subkonjunktivale Injektion mit Atropin-, Scopolamin- und Phenylephrin-Augentropfen (sog. Sprengspritze) erfolgen. Dies ist nicht ganz ungefährlich, und sollte nur in Ausnahmefällen erfolgen (SPIESS, 1997; GERHARDS u. WOLLANKE, 2001; GERHARDS u. WOLLANKE, 2006). Andere Autoren warnen davor, öfter als sechs mal täglich Atropin zu verabreichen, da das Risiko einer Kolik besteht. Gleiches gilt für 2%ige oder gar 4%ige Atropinsalben oder -tropfen (GILGER u. DEEG, 2011). In sehr seltenen Fällen besteht eine Atropin-Allergie und die Situation verschimmert sich drastisch nach der Gabe von Atropin, dann muss Scopolamin als Mydriatikum eingesetzt werden (GERHARDS u. WOLLANKE, 2006).

Gleichzeitig werden lokal glukokortikoid-haltige Augensalben oder -tropfen verabreicht um die Entzündungsreaktion einzudämmen und Schmerzen zu lindern. Als am besten wirksam beim Pferd haben sich dexamethasonhaltige Augensalben bewährt. Initial können sie fünf bis sechs mal täglich verabreicht werden, sie sollten in jedem Fall zwei bis drei mal täglich appliziert werden bis alle Entzündungsprodukte aus der vorderen Augenkammer resorbiert sind, die Glaskörpertrübung deutlich aufgeklärt ist und das Pferd keine Schmerzhaftigkeit mehr zeigt. Dexamethason kann auch subkonjunktival injiziert werden, es sollten jedoch keine kristallinen Lösungen eingesetzt werden, da diese oft zu Nekrosen der Tenonschen Kapsel oder zu granulomartige Zubildungen in der Bindehaut führen. Kortikosteroide sollten grundsätzlich nur bei intakter Hornhaut appliziert werden. Sie verhindern die Heilung und Epithelisierung von Hornhautdefekten und bergen so die Gefahr eines Hornhautulkus oder gar einer Hornhautruptur (GERHARDS u. WOLLANKE, 2001; GERHARDS u. WOLLANKE, 2006). Man kann auch nicht-steroidale Antiphlogistika lokal applizieren, jedoch ist ihre Wirkung nicht so stark wie die der Glukokortikoide und sie verlangsamen ebenso die Epithelisierung eines Hornhautdefekts (GILGER u. DEEG, 2011).

Zusätzlich ist die systemische Gabe eines nicht-steroidalen Antiphlogistikums zur Schmerzlinderung und Entzündungshemmung angezeigt (SPIESS, 1997; GERHARDS u.

WOLLANKE, 2001). Es kann oral verabreicht werden. Die beste Wirksamkeit besitzt Phenylbutazon in einer Dosierung 4,4 mg/kg (GERHARDS u. WOLLANKE, 2001; GERHARDS u. WOLLANKE, 2006). GILGER und DEEG (2011) ziehen Flunixin-Meglumin (0,5mg/kg/Tag für 5 Tage, danach 0,25 mg/kg/Tag) vor. In besonders schweren Fällen kann auch Prednisolon (100-300mg/Tag) oder Dexamethason (5-10mg/Tag) systemisch verabreicht werden (Dosierung von Prednisolon und Dexamethason nach GILGER u. DEEG, 2011). Die Behandlung sollte für die Dauer von zwei Wochen nach Abklingen der Symptome weitergeführt werden, um einen sofortigen Rückfall zu vermeiden (GERHARDS u. WOLLANKE, 2001; GILGER u. DEEG, 2011). In Einzelfällen kann die systemische Verabreichung von Antibiotika erwogen werden (GERHARDS u. WOLLANKE, 2001).

Da mit konservativer Therapie die weiteren Entzündungsschübe nicht verhindert werden können, kann im entzündungsfreien Intervall eine Vitrektomie durchgeführt werden. Diese Glaskörper-Operation wurde von WERRY u. GERHARDS (1992) etabliert. Dabei wird im Bereich der pars plana mit einer Infusionsleitung und mit der Vitrektomieklinge eingegangen und das Glaskörpermaterial wird zerkleinert und abgesaugt. Gleichzeitig wird durch permanente Infusion mit BSS (Balanced Salt Solution)-Lösung das Volumen und der Augeninnendruck aufrechterhalten. So wird der Glaskörperraum gespült und das Glaskörpermaterial durch BSS-Lösung ersetzt. Mit dieser Operation kann zuverlässig und höchst effektiv, nämlich mit einer Wahrscheinlichkeit von 98%, das Auftreten weiterer Uveitis-Schübe verhindert werden (GERHARDS u. WOLLANKE, 2001, 2005; WINTERBERG, 1997) . Wenn die betroffenen Augen zum Zeitpunkt der OP noch nicht oder nur geringgradig geschädigt sind, ist die Prognose für den Erhalt des Auges und des Visus recht gut (WOLLANKE u. GERHARDS, 2009). Das Risiko für die Entstehung einer Katarakt liegt unter 3%, für die Entwicklung einer Netzhautablösung unter 1% (GERHARDS u. WOLLANKE, nicht veröffentlichte Daten, 2004). Liegt jedoch bei der OP bereits eine beginnende Katarakt vor, so schreitet diese im weiteren Verlauf in der Regel fort. Ist das Auge mittel- oder hochgradig vorgeschädigt zum Zeitpunkt der OP, so wird die Prognose für den Visuserhalt schlechter. Prognostisch negative Faktoren sind deutliche Bulbusatrophie oder gar Phthisis bulbi, flächige hintere Synechien und deutliche an der Linsenrückfläche haftende Entzündungsprodukte. In Ausnahmefällen kann eine Vitrektomie an bereits erblindeten Augen durchgeführt werden, um weitere schmerzhaft Schübe zu verhindern und um den Augapfel zu erhalten (WOLLANKE u. GERHARDS, 2009). Im Falle einer bereits vollständigen Katarakt oder therapieresistenter maximaler Miosis kann mittels Vitroptik unter endoskopischer Kontrolle (vergleichbar mit einer Arthroskopie) eine Vitrektomie durchgeführt werden. In diesen Fällen besteht jedoch ein erhöhtes

Risiko für eine Netzhautablösung und eine Entwicklung eines Sekundär-Glaukoms (GERHARDS u. WOLLANKE, 2002). Die Operation birgt neben dem Narkoserisiko das Risiko einer Netzhautablösung und einer Endophthalmitis ausgelöst durch Streptokokken oder Staphylokokken. Eine Endophthalmitis führt unweigerlich zur Erblindung des Patienten und kann eine Indikation zur Bulbusexstirpation darstellen. Das Risiko wird mit 0,5% angegeben (GERHARDS u. WOLLANKE, 2006, 2009).

Bei der OP wird nahezu das gesamte Glaskörpermaterial und damit auch die intraokular persistierenden Leptospiren mit aktivierten Immunzellen und Entzündungsmediatoren entfernt. Die deutlich flüssigere BSS-Lösung wird innerhalb von sieben Tagen vom Körper durch Kammerwasser ersetzt. Dort kann sich keine neue Leptospireninfektion manifestieren. Außerdem werden Glaskörpertrübungen und -Einlagerungen entfernt, was den Visus verbessert (GERHARDS u. WOLLANKE, 2006).

Es kann auch mit Cyclosporin-haltiger Augensalbe entzündungshemmend behandeln werden. Sogar das Einsetzen eines Cyclosporin-Implantat in die Sklera ist möglich. Das Implantat setzt über einen langen Zeitraum Wirkstoff frei, was die Entzündungsschübe in diesem Zeitraum mildern oder ganz unterdrücken kann. Allerdings muss es ebenso in Vollnarkose mit Sklerotomie eingesetzt werden. Es können weder visuseinschränkende Glaskörpertrübungen noch die intraokulare Leptospireninfektion entfernt werden (GERHARDS u. WOLLANKE, 2006). Nach einer Studie von GILGER et al. (2009) muss nach 48 Monaten ein neues Implantat gesetzt werden um weitere Entzündungsschübe zu verhindern.

#### **2.3.1.4 Immunologische Aspekte**

Das Auge gehört zum zentralen Nervensystem und ist demnach zum einen in seiner Regenerationsfähigkeit deutlich limitiert und zum anderen nicht mit Lymphgefäßen zur Drainage ausgestattet. Deshalb ist es notwendig, dass das Auge vor den deletären Folgen einer gewebszerstörenden Immunreaktion geschützt wird. Zu diesem Zweck entwickelte sich im Auge ein einzigartiger immunregulatorischer Mechanismus, der als „Immunprivileg des Auges“ bezeichnet wird (GRISANTI, 1998).

Unter „Immunprivileg“ versteht man das Phänomen, dass histoinkompatibles Gewebe an bestimmten Orten des Organismus länger überleben kann. Zu den immunprivilegierten Orten

gehören Auge, Großhirn (Cerebrum), Haarfollikel, Leber, Knorpelgewebe, Schilddrüse, Ovarien, Hoden, Nebennieren und die fetoplazentale Einheit (GRISANTI, 1998).

Das Immunsystem besteht aus zwei Kompartimenten: dem unspezifischen (angeborenen) und dem spezifischen (erworbenen) Immunsystem. Diese können im Zusammenspiel zwischen körpereigen und körperfremd unterscheiden, können spezifisch auf Antigene reagieren, können durch die Proliferation immunologisch kompetenter Zellen zu Effektorzellen der zellulären und humoralen Immunität eine wirkungsvolle Immunantwort vollbringen und sogar ein immunologisches Gedächtnis aufbauen. Um eine Immunantwort zu induzieren, muss das Antigen präsentiert werden. Dies erfolgt über Zellen, die auf ihrer Oberfläche MHC-Klasse II – Moleküle (*major histocompatibility complex*) exprimieren, wie Makrophagen, Langerhanszellen oder Antigen-präsentierende Zellen. Sie phagozytieren das Antigen, brechen es auf und präsentieren es mit Hilfe ihres MHC-Klasse II – Moleküls an der Oberfläche. Nur so kann das Antigen von den T-Helfer-Lymphozyten erkannt werden. Nur wenn diese Antigenpräsentation effizient erfolgt, kann zum einen die Proliferation und zum anderen die Differenzierung von funktionell unterschiedlichen Effektorzellen eingeleitet werden. Es werden B-Lymphozyten aktiviert, was die Produktion und Sekretion spezifischer Antikörper zur Folge hat. Auch T-Lymphozyten werden aktiviert. Dies resultiert in der Ausdifferenzierung und klonalen Expansion verschiedener Funktionstypen: Zytotoxische T-Zellen dringen ins Gewebe ein und greifen mit lymphozyteneigenen Toxinen die Antigen-präsentierenden Zellen direkt an. T-Zellen, die für eine Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ verantwortlich sind, greifen indirekt an, indem sie Zytokine frei setzen und Makrophagen aktivieren. Bei einer solchen Reaktion kommt es zur Schädigung von primär unbeteiligten Gewebe, was auch als „bystander effect“ bezeichnet wird. Suppressor-T-Lymphozyten kontrollieren die Aktivität der übrigen Lymphozyten bei diesen Reaktionen (GRISANTI, 1998).

Im Auge kann ebenso eine zelluläre und humorale Immunantwort stattfinden. Zusätzlich gibt es auf Grund anatomischer und funktioneller Besonderheiten eine feinstufige Immunregulation, die einerseits den größtmöglichen Schutz vor Antigenen bietet und andererseits einen inflammatorischen Begleitschaden minimiert. Dies wird als „immunologisches Privileg“ bezeichnet. Dieses Privileg ist nur mit den intraokularen Kompartimenten assoziiert und somit in den dortigen lokalen biochemischen und anatomischen Besonderheiten begründet. Zu den anatomischen Besonderheiten zählt die hämatookulare Barriere, auch Blut-Augen-Schranke genannt. Dazu zählt die Blut-Kammerwasser-Schranke und die Blut-Netzhaut-Schranke. Beide verhindern den freien Übertritt von spezifischen und unspezifischen, humoralen und zellulären Entzündungsmediatoren sowie von Plasmaproteinen. Durch aktive Transportprozesse kontrollieren

sie den gesamten Stoffaustausch (GRISANTI, 1998). Da das innere Auge nicht mit Lymphgefäßen drainiert und somit nicht mit einem regionären Lymphknoten assoziiert ist (DROMMER et al., 1996; GRISANTI, 1998), erfolgt die Rückführung von Stoffen aus dem Augeninneren hauptsächlich über das Trabekelmaschenwerk und geringfügig über perivenöse interstitielle Räume und über die Lamina cribrosa des Nervus opticus in das venöse System. So kann unter Umgehung der Lymphwege direkt die Milz erreicht werden (GRISANTI, 1998).

Bereits 1873 berichtete VAN DOOREMAL, dass in die vordere Augenkammer implantiertes Fremdgewebe länger überlebte als subkutan implantiertes Fremdgewebe. Dies konnte in einem Experiment mit Mäusen bestätigt werden: Es wurden allogenetische Tumorzellen in die vordere Augenkammer immunkompetenter Mäuse implantiert. Es kam nicht zur Implantatabstoßung, die Tumorzellen zeigten sogar Proliferation. Wurden die gleichen allogenetischen Tumorzellen subkutan bei immunkompetenten Mäusen implantiert, erfolgte die Implantatabstoßung durch eine zelluläre Immunantwort vom verzögerten Typ. Wurden dagegen mit zeitlichem Abstand den Mäusen, die bereits das Implantat in der vorderen Augenkammer besaßen, die Tumorzellen subkutan implantiert, erfolgte keine Abstoßungsreaktion. Im Serum der Mäuse, die das Implantat in die vordere Augenkammer erhalten hatten, konnten sowohl zytotoxische T-Zellen als auch antigenspezifische Antikörper nachgewiesen werden (KSANDER et al., 1992; GRISANTI, 1998). Diese anormale Immunantwort lässt auf einen aktiven Regulationsmechanismus im Auge schließen (GRISANTI, 1998). Dieser Mechanismus wird als „Anterior chamber associated immunodeviation“ (*ACAID; Vorderkammer-assoziierte abweichende Immunantwort*) bezeichnet (GRISANTI, 1998; JIANG u. STREILEIN, 1991; 1994) und zeichnet sich durch eine starke stereotypische systemische Immunantwort aus (KOSIEWICZ et al., 1994), die zu einer antigenspezifischen Immuntoleranz führt (GRISANTI, 1998).

Charakteristika der abweichenden Immunantwort sind (GRISANTI, 1998) folgende:

- (1) keine Ausbildung einer antigenspezifischen Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ (NIEDERKORN u. STREILEIN, 1983)
- (2) klonale Expansion von unreifen zytotoxischen T-Lymphozyten
- (3) unerschwellige Produktion von komplementfixierenden Antikörpern (IgG2a) (WILBANKS u. STREILEIN, 1989)
- (4) erhöhter Titer von nicht-komplementfixierenden Antikörpern (WILBANKS u. STREILEIN, 1989)

Weiterhin wurde festgestellt, dass die sog. Okulo-splenale Achse, also der Dialog zwischen Auge und Milz, ein unabdingbarer Bestandteil des ACAID-Phänomens ist. Im Experiment konnte gezeigt werden, dass die abweichende Immunantwort nicht ausgelöst wird, wenn in den ersten vier bis fünf Tagen nach der Implantation des Antigens in die vordere Augenkammer entweder die Milz oder das betroffene Auge entfernt wird (STREILEIN u. NIEDERKORN, 1981; WILBANKS u. STREILEIN, 1991). Bei der Signalübertragung kann zwischen einem afferenten Weg vom Auge zur Milz und einem efferenten Weg von der Milz zum Auge unterschieden werden (GRISANTI, 1998). Es wird vermutet, dass antigen-präsentierende Zellen, die F4/80 positiv sind, also einen Marker von reifen Makrophagen tragen, im Auge residieren, das Antigen aufnehmen und prozessieren. Dann verlassen sie das Auge über das Trabekelmaschenwerk und gelangen über den Blutweg in die Milz und lösen dort das ACAID-Phänomen aus (GRISANTI, 1998). Diese Theorie wird unterstützt durch Experimente von WILBANKS et al. (1991; 1992) und WILBANKS und STREILEIN (1992). Um diese abweichende Immunantwort auszulösen, müssen nicht nur die antigen-präsentierenden Zellen vorhanden sein, sondern auch das intraokulare Milieu muss gegeben sein (GRISANTI, 1998; WILBANKS et al., 1992). Dies zeichnet sich aus durch das Vorhandensein immunsuppressiver Faktoren wie TGF  $\beta$  (*transforming growth factor –  $\beta$* ),  $\alpha$  MSH ( *$\alpha$ -Melanocyte stimulating hormone*), VIP (*Vasoactive intestinal peptide*), freies Kortisol und Calcitonin gene related peptide, wobei alle dieser Mediatoren zusätzlich zu den immunsuppressiven auch antiinflammatorische Eigenschaften besitzen (GRISANTI, 1998). Wenn das Signal die Milz erreicht hat, werden regulatorische Suppressor-T-Lymphozyten gebildet, die eine Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ und die Bildung von IgG2a produzierenden B-Lymphozyten unterdrücken (NIEDERKORN u. STREILEIN, 1983; WILLIAMSON u. STREILEIN, 1988). Die Bildung von zytotoxischen T-Zellen bleibt unbeeinflusst, das Augeninnere muss vor ihnen geschützt werden. Dies gelingt dank der hämatookularen Barriere. Falls die präsensibilisierten zytotoxischen T-Lymphozyten dennoch ins Augeninnere gelangen, wird dort ihre Ausreifung zu lysefähigen Effektorzellen vermindert. Die Ausreifung ist abhängig von T-Helfer-Lymphozyten, die die Mediatoren IL 2 (*Interleukin 2*), IL 4 (*Interleukin 4*) und IFN  $\gamma$  (*Interferon  $\gamma$* ) sezernieren (GRISANTI, 1998). Die Ausschüttung von IL 4 und IFN  $\gamma$  ist jedoch im Auge per se supprimiert. Die immunmodulatorischen Effekte des Kammerwassers beruhen also auf der Zusammensetzung, die zu minderreaktiven T-Lymphozyten führt, die ihrerseits fähig sind zur klonalen Expansion und zur Sekretion TGF  $\beta$ , der dank auto- und parakriner Wirkung die Immunsuppression in der vorderen Augenkammer verstärkt (GRISANTI, 1998). Wenn die zytotoxischen T-Zellen schon zu lysefähigen Effektorzellen ausgereift sind, kann dies nicht mehr rückgängig gemacht werden. Sie können aber dank der intraokularen Expression



von FasL (*Fas Ligand*) durch Apoptose beseitigt werden. Teile von ihnen gelangen dann über das Trabekelmaschenwerk und das venöse System zur Milz und können dort das ACAID-Phänomen auslösen. Zusätzlich ist im Kammerwasser ein bisher noch nicht identifizierter Faktor enthalten, der die Wirkung von natürlichen Killer-Zellen vermindert. Das Immunprivileg kann allerdings nicht aufrecht erhalten werden, wenn bereits eine starke Entzündung im Auge vorherrscht, wenn eine Gefäßeinsprossung in die Hornhaut vorliegt oder wenn sich Langerhanszellen in der zentralen Hornhaut befinden (GRISANTI, 1998).

Der Vorteil des Immunprivilegs ist ganz klar die Tatsache, dass das Auge vor überschießenden und gewebszerstörenden Immunreaktionen und, wie im Experiment gezeigt werden konnte, auch vor Autoimmunreaktionen im Sinne einer autoimmun bedingten Uveitis geschützt wird (HARA et al., 1992). GRISANTI (1998) vermutete, dass das ACAID-Phänomen bezüglich der Autoantigene, die ja dauerhaft in der Retina vorhanden sind, erst dann ausgelöst wird, wenn aus irgendeinem Grund die hämatookulare Barriere nicht mehr intakt ist und dass das ACAID-Phänomen bei einer überproportionalen systemischen Aktivierung des Immunsystems, zum Beispiel im Sinne einer molekularen Mimikry, zum Erliegen kommen könnte. Der Nachteil besteht darin, dass das Immunprivileg eine Abwehrlücke gegen infektiöse Organismen und transformierte Zellen darstellt (GRISANTI, 1998; STREILEIN, 1987). Tumorzellen, die entweder im Auge entstehen oder hinein gelangen, können unerkannt im Auge verweilen. Unter dem Einfluss der abweichenden Immunantwort können sich Metastasen im Auge oder auch an anderen Körperstellen entwickeln (STREILEIN et al., 1980). CASPI (2006) nimmt an, dass Autoimmunreaktionen eine unvermeidliche Folge des Immunprivilegs sind. Auf Grund der Abschirmung des Auges vom Immunsystem durch die Blut-Augen-Schranke gäbe es zwangsläufig autoreaktive T-Zellen, die spezifisch gegen intraokulare Antigene gerichtet seien. Sie würden von regulatorischen T-Lymphozyten kontrolliert. Würde nun dieses Gleichgewicht gestört, wenn zum Beispiel Gewebe im Auge geschädigt und das Immunsystem aktiviert würde, könne es zu Autoimmunreaktionen kommen.

DROMMER et al. (1996) beschreiben immunopathologische Befunde in der histopathologischen Untersuchung der Uvea bei Pferden, die an chronischer ERU erkrankt waren, wie folgt: es ließ sich feststellen, dass im erkrankten Auge eine gesteigerte Expression von MHC-Klasse II – Molekülen, vor allem auf Gefäßendothelien der verschiedenen Uveaabschnitte und des Kammerwasserplexus sowie auf Hyalozyten und auch in der degenerativ veränderten Retina vorhanden war. Zusätzlich ebenso auf Trabekularzellen im Trabekelmaschenwerk des Kammerwinkels und auf dem nicht-

pigmentierten Ziliarkörperepithel, besonders in Assoziation zu den lymphozytären Infiltraten. An beiden letztgenannten Orten findet bei gesunden Augen keine Expression von MHC-Klasse II – Molekülen statt. Vorherrschende Entzündungszellen waren die T-Lymphozyten, sodass die Autoren von einer Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ ausgehen. Sie halten es für wahrscheinlich, dass noch andere immunpathologische Mechanismen beteiligt sind und schließen aus der Zusammensetzung der Entzündungszellen in der Uvea auf eine Schrittmacherrolle einer zellvermittelten Immunreaktion (DROMMER et al., 1996).

Zusätzlich zum Immunprivileg des Auges muss beachtet werden, dass die Müller Zellen der Retina immunsuppressiv auf autoaggressive T-Lymphozyten wirken können (NUSSENBLATT u. GERY, 1996).

Es konnte bereits gezeigt werden, dass das Immunprivileg nicht nur in der vorderen Augenkammer, sondern auch im Glaskörper und Subretinalraum besteht (JIANG u. STREILEIN, 1991; 1994). SONODA (2005) zeigte im Experiment mit Mäusen, dass nach Inokulation eines Antigens in den Glaskörper eine abweichende Immunantwort im Sinne einer systemischen Toleranz gegenüber diesem Antigen entsteht. Er verabreichte Mäusen ein Antigen, Ovalbumin, in den Glaskörper und eine Woche später das gleiche Antigen an anderer Stelle (dem Ohr) verabreicht. Bei den Mäusen, die bereits das Antigen in den Glaskörper injiziert bekommen hatten, fiel die Schwellung des Ohres und somit die Hypersensibilitätsreaktion deutlich geringer aus als bei Mäusen, die nicht vorbehandelt waren. Ebenso verhielt es sich, wenn bestrahlte Splenozyten verwendet wurden. Die Autoren schlussfolgerten daraus, dass sowohl lösliche Antigene als auch Alloantigene, die sich im Glaskörper befinden, eine Glaskörper-assoziierte abweichende Immunantwort (*vitreous chamber associated immunodeviation*) auslösen können. Allerdings konnte die abweichende Immunantwort nicht ausgelöst werden, wenn eine Uveitis oder eine geschädigte Kornea vorlagen oder wenn die Antigene entweder subkonjunktival oder direkt in den Blutgefäße appliziert wurden. Im Experiment wurde sowohl mit IL 6 als auch mit dem Autoantigen IRBP eine Uveitis ausgelöst. Im Zeitraum um den Höhepunkt der Entzündung konnte keine abweichende Immunantwort ausgelöst werden. Vor und nach diesem Zeitraum war es möglich, die abweichende Immunantwort auszulösen. Weiterhin konnten die Autoren zeigen, dass Makrophagen, die sich mit dem verabreichten Antigen auseinander gesetzt hatten, in die Milz gelangen. Sie vermuteten, dass es sich dabei um Hyalozyten handelt, konnten dies aber auf Grund der geringen Anzahl der Hyalozyten nicht experimentell bestätigen. Sie stellten außerdem fest, dass natürliche Killer-Zellen notwendig sind, um die abweichende Immunantwort zu induzieren.



Das Resumee der Autoren beinhaltet folgende Fakten:

- (1) es gibt eine Glaskörper-assoziierte abweichende Immunantwort, die zu systemischer Toleranz gegenüber einem speziellen Antigen führt
- (2) sie kann nicht im entzündeten Auge induziert werden
- (3) im Auge residierende antigen-präsentierende Zellen gelangen mit dem Antigen über den Blutweg in die Milz; diese Zellen könnten F4/80+-Zellen sein, die an der Oberfläche der Retina zu finden sind, diese Zellen könnten Hyalozyten sein
- (4) dort werden natürliche Killer-Zellen stimuliert, sodass vermehrt die immunsuppressiven Mediatoren TGF  $\beta$  und IL-10 sezerniert werden und es entstehen antigenspezifische regulatorische T-Lymphozyten

WOLLANKE et al. (2004) sind der Meinung, dass auf Grund der Immunsuppression im Glaskörper die Leptospiren in den Glaskörper eindringen und dort verweilen können, da sie nicht ausreichend oder gar nicht vom Immunsystem erkannt und eliminiert werden. Auch das Phänomen der „Molekular mimikry“ könnte dazu beitragen. Dies würde bedeuten, dass die Erreger deshalb nicht erkannt werden, weil ihre Oberflächenantigene sehr ähnlich sind wie körpereigene Proteine oder weil sie sich mit wirtseigenen Proteinen maskieren (WOLLANKE et al., 2004; NIEDERMAIER, 2002). So lange die Autoimmunreaktionen, die im Auge immer geringgradig ablaufen, und die Immunsuppression im Auge im Gleichgewicht stehen, erscheint das Auge klinisch gesund. Wenn im Rahmen eines Traumas oder einer Infektion oder einer experimentellen Injektion von Netzhautantigenen die Blut-Augen-Schranke zusammenbricht und das intraokulare Gleichgewicht gestört wird, gelangen autoreaktive Zellen in das Auge und unabhängig von dem auslösenden Ereignis kann eine Autoimmunreaktion im Auge nachgewiesen werden. WOLLANKE et al. (2004) sahen die Henle-Koch-Postulate für die ERU als erfüllt an: Sie konnten regelmäßig Leptospiren aus dem Glaskörper nachweisen, sie konnten sie aus Glaskörpermaterial anzüchten und in früheren Berichten (WILLIAMS et al., 1971) konnten mit einer experimentellen Infektion mit Leptospiren Uveitiden ausgelöst werden. Somit war es erwiesen, dass es sich bei der ERU um eine persistierende intraokulare Leptospireninfektion handelt, der genaue Pathomechanismus der rezidivierenden Schübe blieb jedoch unklar.

## 2.4. Leptospiren und Leptospirose beim Pferd

### 2.4.1 Taxonomie und Morphologie

Taxonomisch werden die Leptospiren wie folgt eingeteilt (GARRITY et al., 2001):

Reich:	Bacteria
Abteilung:	Spirochaetes
Ordnung:	Spirochaetales
Familie:	Leptospiraceae
Gattung:	Leptospira
Spezies:	Leptospira interrogans
Serovare:	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Australis, Grippotyphosa, Hebdomadis etc.

Nach LEVETT (2001) wird die Gattung *Leptospira* auf Grund molekular-biologischer Untersuchungen in verschiedene Genospezies eingeteilt, die sowohl pathogene als auch apathogene Serovare beinhalten. Klinische Labors behalten jedoch weiterhin die frühere Einteilung der Gattung *Leptospira* in die pathogene Spezies *Leptospira interrogans* und die apathogene Spezies *Leptospira biflexa* bei. Die Spezies *Leptospira interrogans* wird in etwa 200 Serovare unterteilt, die wegen ihrer antigenetischen Eigenschaften zu Serogruppen zusammengefasst werden (LEVETT, 2001; GESELL, 2004; STRAUBINGER, 2011).

Nach STRAUBINGER (2011) lässt sich aus den serologischen Reaktionen nicht erkennen, mit welchen Serovaren die Pferde am häufigsten infiziert sind. Seiner Meinung nach zeigen die Ergebnisse der Serologie lediglich die epidemiologische Situation des jeweiligen Gebiets. In einer Untersuchung von WOLLANKE et al. (2002) konnte bei den meisten Pferden in den Glaskörperproben Serovar Grippotyphosa nachgewiesen werden. Bei der gleichen Untersuchung bestand bezüglich Antikörpertitern im Blut kein signifikanter Unterschied zwischen Pferden, die an ERU erkrankt waren und augengesunden Pferden. In den Proben von Kammerwasser und Glaskörper jedoch ließen sich bei an ERU erkrankten Pferden deutlich öfter positive und auch viel höhere Antikörpertiter nachweisen (WOLLANKE et al., 1998; WOLLANKE, 2002).

Leptospiren sind gramnegative Bakterien. Sie sind schraubenförmig gewunden, 6-24µm lang und der Durchmesser beträgt 0,1-0,15µm (STRAUBINGER, 2011). Die äußere Hülle umschließt einen Protoplasmaazyliner, der sich um ein zentrales Axialfilament windet. In flüssigen Medien sind die

Enden knopfartig verdickt oder hakenförmig eingebogen und die Leptospiren aktiv beweglich. Wenn es sich um ein visköses Medium handelt, führen sie auch bohrende Bewegungen aus. In feuchtem Milieu können sie bis zu 200 Tage überleben. Bei Eintrocknung und Einwirkung von hohen Temperaturen sowie in saurem und alkalischem Milieu gehen sie schnell zu Grunde. Die üblichen Desinfektionsmittel sind wirksam. Leptospiren sind auch für den Menschen als Krankheitserreger bedeutsam (STRAUBINGER, 2011).

#### **2.4.2 Pathogenese und Übertragungswege**

Die pathogenen Leptospiren siedeln sich im proximalen Tubuluskonvolut der Niere der Reservoirwirte an und werden mit dem Urin ausgeschieden. Reservoirwirte sind Nager wie Ratte, Feld-, Sumpf- und Brandmaus und Hamster, weitere Wildtiere oder verwilderte domestizierte Tiere sowie in machen Fällen Rinder und Schweine. Sie zeigen keine oder nur geringgradige klinische Symptome, scheiden aber die Erreger mit Urin, Fruchtwasser, Nachgeburt, Speichel, Milch und Sperma aus. So erfolgt die Übertragung der Leptospiren in der Regel durch Kontakt mit Urin von infizierten Tieren oder durch Kontakt mit kontaminiertem Boden oder Wasser. Wenn man von der prä- und perinatalen Periode absieht, kommen Infektionen von Pferd zu Pferd praktisch nicht vor (NATTERMANN, 2006; STRAUBINGER, 2011).

Adulte Leptospiren dringen durch kleine Hautverletzungen oder Schürfwunden, aber auch durch intakte Schleimhäute, wie Konjunktiven oder Genitalschleimhäute in den Körper ein. Ebenso ist dies bei oraler Aufnahme durch die Schleimhaut im Bereich des Nasopharynx möglich. Sie gelangen in die Blutbahn und siedeln sich dann in parenchymatösen Organen an. Zunächst erreichen sie die Leber wo sie sich vermehren und Leberfunktionsstörungen verursachen (NATTERMANN, 2006). Die Bakteriämie (septikämische Phase) dauert etwa acht Tage (NATTERMANN, 2006; STRAUBINGER, 2011). Dann setzt die Antikörperproduktion ein und die Leptospiren werden zerstört (toxische Phase); ein Teil der Bakterien kann sich jedoch an Orten mit niedriger Antikörperproduktion, zum Beispiel den Tubuli contorti der Niere zurückziehen (NATTERMANN, 2006).

Das Hämotoxin der Leptospiren verursacht einen Zerfall der Erythrozyten, was Hämoglobinämie, Hämoglobinurie, Anämie und Ikterus zur Folge hat. Durch das Endotoxin der Bakterien werden ZNS, weitere Orgazellen und Gefäße geschädigt; auch ein Abort ist möglich (NATTERMANN,

2006; STRAUBINGER, 2011). LEVETT (2001) nimmt an, dass durch zirkulierende Immunkomplexe die klinischen Symptome, die im Folgenden beschrieben werden, ausgelöst werden. Er geht von einer immunvermittelten Pathogenese aus. Bei in-vitro Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass Leptospiren sich sowohl an Fibroblasten, Endothelzellen und Nierenepithelzellen anlagern als auch in sie eindringen können (VINH et al., 1984; THOMAS u. HIGBIE, 1990) und außerdem eine Apoptosis der Makrophagen induzieren können (MERIEN et al., 1997). Die Autoren gehen davon aus, dass diese Eigenschaften der Leptospiren dazu beitragen, dass sie im Wirt überleben und der Immunantwort entkommen können. Auch MC GRATH et al. (1984) vermuteten, dass Leptospiren eine antiphagozytische Komponente auf ihrer Oberfläche tragen, da sie bei in-vitro Untersuchungen nur in Gegenwart von Hochimmunseren und Komplementfaktoren phagozytiert werden konnten. BADIOLA et al. (1983) beschreiben, dass Leptospiren, die mit dem Urin ausgeschieden wurden, eine Hülle aus wirtseigenem Protein besitzen, die die Erkennung durch Antikörper verhindert. Eine ähnliche Hülle konnte NIEDERMAIER (2002) bei Glaskörper-Untersuchungen feststellen (siehe auch NIEDERMAIER et al., 2006).

Die Bakterien lassen sich noch über sehr lange Zeiträume (Monate bis Jahre) in den Tubuli der Niere nachweisen, selbst wenn im Blut nur noch sehr niedrige Antikörpertiter oder weder Antikörper noch Antigen nachweisbar sind. Es ist jedoch auch möglich, dass lebenslang Antikörper nachweisbar sind (FAINE, 1994). Es entsteht eine humorale Immunität, die durch die Lipopolysaccharide (LPS) auf der Oberfläche der Bakterien stimuliert wird. Da LPS für die Serovarspezifität verantwortlich sind, beschränkt sich auch die Immunität auf die jeweiligen homologen oder eng verwandten Serovare (LEVETT, 2001).

#### **2.4.3 Symptome und Verlauf**

Eine Leptospirose kann akut oder chronisch, selten auch perakut verlaufen. Die Inkubationszeit beträgt wenige Tage bis mehrere Wochen (NATTERMANN, 2006). In den meisten Fällen verlaufen systemische Infektionen mit Leptospiren bei Pferden jedoch subklinisch und werden nur durch die serologischen Reaktionen erkannt (STRAUBINGER, 2011).

Bei der perakuten Form treten Fieber, Apathie, Anorexie, Tachypnoe, Tachykardie, Pollakisurie und Hämoglobinurie auf. Nach Rückgang des Fiebers kommt es teilweise zu Untertemperatur, Anämie, Leukozytose und Neutrophilie.

Bei der akuten Form treten zuerst Fieber (40,0-40,5°C), Apathie und Anorexie auf. Nach wenigen Tagen können sich nach Temperaturabfall Ikterus, Verschlechterung des Allgemeinbefindens, steifer Gang, Lähmungen, Myalgien, Petechien, Durchfälle sowie Obstipationen und Kolik und Oligurie bei rötlich verfärbtem Harn entwickeln. Diese Veränderungen können bis zu 14 Tage andauern. Im weiteren Verlauf kann es zu einem Abort im letzten Drittel der Trächtigkeit kommen. Bei der chronischen Form treten über mehrere Wochen rezidivierend Fieberschübe für 2-5 Tage auf. Begleitend kann man Leistungsdepression und Abmagerung der Patienten feststellen. Weiterhin können Subikterus, Haemorrhagien und erhöhte Herzfrequenz auftreten.

Eine weitere klinische Form ist geprägt von meningoenzephalitischen Erscheinungen (NATTERMANN, 2006).

#### **2.4.4 Diagnose und Therapie**

Um eine akute Leptospirose beim Pferd zu diagnostizieren, kann mittels PCR Antigen im Blut nachgewiesen werden. Im weiteren Verlauf können in Harn oder Kammerwasser mittels PCR Antigen oder im Serum mittels MAR Antikörper nachgewiesen werden. Antikörpertiter in der MAR ab 1:100 können als positiv gewertet werden. Die serologische Untersuchung muss jedoch im Abstand von acht bis zehn Tagen wiederholt werden (Serumpaare). Ein Titeranstieg um mindestens zwei Titerstufen innerhalb einer Woche lässt auf eine frische Infektion schließen (NATTERMANN, 2006).

Eine systemische Leptospirose muss so früh wie möglich erkannt und die Patienten isoliert werden. Die Therapie der Wahl ist eine Langzeittherapie mit Antibiotika. Leptospiren sind sehr empfindlich gegenüber Penicillin in einer Dosierung von 10 000-15 000 IE/kg KM, Oxytetracyclin in einer Dosierung von 10-15mg/Tag oder Streptomycin, das eine Nierenbesiedelung verhindern kann. Zusätzlich sollte individuell begleitend symptomatisch therapiert werden.

Eine durch Leptospiren bedingte Uveitis und eine ERU müssen, wie in Kapitel 2.3.2.6 *Therapie der ERU* beschrieben, behandelt werden. Bei klinisch nicht eindeutigen Fällen kann die Diagnose mittels MAR, ELISA und PCR von Kammerwasser sicher gestellt werden. Ein positives Ergebnis ist eine Indikation zur Vitrektomie (WOLLANKE, 2002). Nach LOIBL (2009) sollte bei einem negativen MAR-Ergebnis eine Untersuchung des Kammerwassers mittels ELISA auf IgA-Antikörper gegen Leptospiren erfolgen.

Zu den prophylaktischen Maßnahmen zählen Bekämpfung der Nagetiere, Weidesanierung, sofortige Beseitigung von Gülle, Jauche und verunreinigten stehenden Gewässern und Verhinderung der Überbelegung von Ställen in großen Tierbeständen (NATTERMANN, 2006). Um die Zuverlässigkeit eines Impfstoffs zur Prophylaxe der Leptospirose abschätzen zu können, sind weitere Langzeitstudien erforderlich. Zur Zeit steht in Deutschland kein Impfstoff für Pferde zur Verfügung (WOLLANKE et al., 2004).

## 2.5 Glaukom

In der Humanmedizin versteht man unter dem Begriff Glaukom sämtliche Augenerkrankungen, in deren Verlauf es zu einer Opticusneuropathie kommt und der intraokulare Druck höher ist als das individuell tolerierte Niveau.

In der Veterinärmedizin ist das Glaukom bisher definiert als ein erhöhter Augeninnendruck (DRIESSEN, 2009). UTTER und BROOKS (2010) sprechen von einem Glaukom nur dann, wenn der erhöhte Augeninnendruck zu einem Absterben von retinalen Ganglionzellen führt. Ist hingegen bei erhöhtem Augeninnendruck keine Retinadegeneration festzustellen, sprechen sie von okulärer Hypertension (*ocular hypertension*) (UTTER u. BROOKS, 2011).

Bei einem gesunden Pferd beträgt der intraokulare Druck 17-28mmHg. Bei einem Glaukom steigt der Augeninnendruck auf Werte von mehr als 28 mmHg an. Nach TÓTH u. HOLLRRIEDER (2010) liegt einem Glaukom entweder ein verminderter Abfluss des Kammerwassers oder eine vermehrten Produktion des Kammerwassers zu Grunde. Andere Autoren sind der Meinung, dass ein Glaukom immer auf Grund einer Obstruktion des Kammerwasserabflusses auftritt (UTTER u. BROOKS, 2011).

### 2.5.1 Vorkommen

Bei Pferden ist das Glaukom eine eher seltene Augenerkrankung. Nach MILLER et al. (1995) liegt die Inzidenz in den USA bei 0,07%. WILCOCK et al. (1991) schreiben, dass die Prävalenz unbekannt sei, da zum einen viele Pferdebesitzer die dezenten Symptome eines Glaukoms im Anfangsstadium gar nicht bemerken und zum anderen oft die technischen Möglichkeiten fehlen, um

den intraokularen Druck zu bestimmen. Verschiedene Autoren beschrieben eine Prädisposition der Rasse Appaloosa für das Auftreten eines Glaukoms (LASSALINE u. BROOKS, 2005), wobei unklar ist, ob die Prädisposition für die Entwicklung eines Glaukoms unabhängig ist von der Prädisposition für die Erkrankung an einer Uveitis. MILLER et al. (1995) vermuteten sogar eine direkte genetische Komponente für die Entwicklung des Glaukoms beim Appaloosa. WILKIE und GILGER (2004) dagegen gingen davon aus, dass keine Rasse prädisponiert ist für das Auftreten eines Primärglaukoms. WOLLANKE (2002) stellte in umfangreichen Untersuchungen zur ERU (n = 696) zum einen fest, dass Knabstrupper, Appaloosas und Paint Horses häufiger ein Sekundärglaukom (n = 46) entwickelten und zum anderen, dass Wallache häufiger betroffen sind als Stuten und Hengste. CULLEN und GRAHN (2000) konnten dies jedoch nicht bestätigen (n = 13), sie konnten weder eine Rasse- noch eine Geschlechts-bedingte Prädisposition feststellen. Wahrscheinlich besteht mit zunehmendem Alter ein erhöhtes Risiko für die Ausbildung eines Glaukoms, wobei unklar ist, ob das Glaukom dann primär altersbedingt auftritt oder ob es mit zunehmendem Alter zu einem erhöhten Auftreten prädisponierender Faktoren wie zum Beispiel Uveitiden kommt (DRIESSEN, 2009).

### 2.5.2 Physiologie des Kammerwassers

Das Kammerwasser (*Humor aquosus*) befindet sich in der vorderen und der hinteren Augenkammer, die durch die Iris voneinander getrennt werden. Das Kammerwasser wird im Ziliarkörper durch Ultrafiltration des Blutes (LÜTJEN-DRECOLL u. KRUSE, 2007) gebildet und aktiv unter Energieverbrauch durch das Enzym Carboanhydrase (UTTER u. BROOKS, 2011) in die Augenkammer sezerniert (DRIESSEN, 2009; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Der Abfluss erfolgt in der vorderen Augenkammer über die Fasern des Ligamentum pectinatum anguli iridocornealis und über die Fontana-Spalten im Kammerwinkel. Weiter gelangt das Kammerwasser über den beim Pferd rudimentär vorhandenen Schlemm-Plexus, über die Venae aequosae, dann über Sammelkanäle in den Plexus venosus sclerae und dann schließlich über die Venae vorticosae anteriores in die Blutbahn (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Dies wird auch als „conventional outflow pathway“ bezeichnet (UTTER u. BROOKS, 2011). Beim Pferd erfolgt der Kammerwasserabfluss jedoch fast ausschließlich über den sog. sekundären Kammerwasserabfluss, der auch als „unconventional outflow pathway“ (UTTER u. BROOKS, 2011) bezeichnet werden kann und durch eine Mydriasis begünstigt wird: Hierbei verteilt sich das Kammerwasser in den interstitiellen Räumen des Musculus ciliaris sowie im Bindegewebe um Nerven und Gefäße und



gelangt so in die gut ausgebildeten supraziliären und suprachoroidalen Hohlräume, wo es entweder von skleralen oder choroidalen Gefäßen absorbiert wird oder weiter in das choroidale und orbitale Gewebe diffundiert. Da dank diesem Mechanismus auch dann Kammerwasser abfließen kann, wenn während einer Uveitis Fibrinablagerungen in der Vorderen Augenkammer zu finden sind und Synechien bestehen, entwickelt sich nicht zwangsläufig ein Sekundärglaukom als Folge einer Uveitis (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

Das klare Kammerwasser weist eine Zusammensetzung auf, die fast der Zusammensetzung des Liquor cerebrospinalis entspricht. Es besteht zu 99% aus Wasser und ist isotonisch zum Serum. Weiterhin enthält es Enzyme, Elektrolyte, Glukose, Harnstoff, Ascorbinsäurederivate und Proteine. Im Vergleich zum Serum ist der Gehalt an Pyruvat, Laktat und Ascorbinsäure erhöht, der Proteingehalt jedoch erniedrigt. Zu den Aufgaben des Kammerwassers gehört die Ernährung der avaskulären Hornhaut und Linse, das Ermöglichen von ungestörtem Lichteinfall in das Auge sowie die Aufrechterhaltung des intraokularen Drucks. Dadurch wird die mechanische Stabilität des Bulbus gesichert. Voraussetzung ist allerdings, dass Produktion und Abfluss des Kammerwassers im Gleichgewicht zueinander stehen (DRIESSEN, 2009; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010).

### 2.5.3 Pathogenese des Glaukoms

Ist bei gleichbleibender Produktion des Kammerwassers der Abfluss nicht mehr ausreichend gewährleistet, so steigt der intraokulare Druck an. In der Regel kommt es zu einem physikalischen oder mechanischen Verschluss der Abflusswege des Kammerwassers. Folgende Phänomene können als Ursache dafür angesehen werden: Postinflammatorische Membranen vor der Iris (*pre-iridal postinflammatory membranes*), Debris, der im Rahmen einer Entzündung entsteht und dann durch Ablagerung zu einer Obstruktion des Kammerwinkels führt, hintere Synechie, Iris bombans, Kompression des Trabekelwerks und Verengung des Kammerwinkels (UTTER u. BROOKS, 2011; WILCOCK et al., 1991). Eine postinflammatorische Atrophie der Uvea kann eine Prädisposition für einem Kollaps des Kammerwinkels darstellen (UTTER u. BROOKS, 2011). Weiterhin kann vor allem bei Appaloosas und Rocky Mountain horses eine Luxation der Linse nach anterior oder ein Glaskörpervorfall sowohl die Pupille als auch den Kammerwinkel liegen. Auch Melanome oder andere Tumorzellen können zu einer Obstruktion des Kammerwinkels führen WILCOCK et al., 1991; BROOKS, 2003; UTTER u. BROOKS, 2011). Auf Grund einer (infektiösen) Endophthalmitis kann ebenfalls ein Sekundärglaukom entstehen (UTTER u. BROOKS, 2011).

Der erhöhte Augeninnendruck führt zu einer Distorsion der umliegenden Gewebe und somit zu



einer mechanischen Schädigung des Nervus opticus, was schließlich zum Visusverlust führt (UTTER u. BROOKS, 2011; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Bereits eine geringgradige Erhöhung des intraokularen Drucks führt zu einer Verminderung des axoplasmatischen Flusses in den großlumigen Axonen in der Retina. Bei anhaltendem erhöhtem intraokularem Druck kollabieren die Axone, es kommt zur Degeneration und schließlich zur Atrophie der Axone (BROOKS, 1999).

Nach UTTER und BROOKS (2010) durchlaufen alle Arten von Glaukom folgende fünf Stadien (BROOKS, 1999):

- (1) es besteht ein initiales Ereignis oder eine Serie von initialen Ereignissen, die sukzessive die Funktion der Kammerwasser ableitenden Gewebe reduziert
- (2) es entstehen morphologische Veränderungen in den Kammerwasser ableitenden Geweben, die eventuell zur Obstruktion führen und somit auch zu erhöhtem Augeninnendruck
- (3) es entsteht ein so hoher Augeninnendruck, dass retinale Ganglienzellen und Axone in ihrer Funktion eingeschränkt sind
- (4) es kommt zur Degeneration der retinalen Ganglienzellen und Axone
- (5) es führt zur progressiven Schädigung der Retina und Visuseinschränkungen, es endet nicht selten mit völligem Visusverlust.

Ein Glaukom kann je nach seiner Ätiologie als kongenitales, primäres oder sekundäres Glaukom klassifiziert werden (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010), wobei ein Glaukom immer sekundär zu einem ursächlichen Mechanismus entsteht (UTTER u. BROOKS, 2011).

Ein kongenitales Glaukom beim Fohlen kommt extrem selten vor. Ursache ist eine Aplasie oder Dysgenese des Kammerwinkels. Oft ist das Glaukom beim neugeborenen Fohlen mit anderen Missbildungen vergesellschaftet (GELATT, 1973; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Es gibt Berichte über ein kongenitales Glaukom bei Fohlen von Trab- und Galopprennpferden und arabischen Vollblütern (GELATT, 1973).

Es ist umstritten, ob es ein primäres Glaukom beim Pferd gibt. Die genauen Pathomechanismen der zu Grunde liegenden primären Anomalie des Kammerwinkels sind bis heute unklar (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Nach UTTER u. BROOKS (2010) kann es beidseitig auftreten und ist möglicherweise genetisch bedingt; es gibt jedoch keine offensichtliche morphologische Ursache für den erhöhten Augeninnendruck. Die Autoren sind der Meinung dass es keine überzeugenden

Berichte über ein primäres Glaukom bei Pferd gibt (UTTER u. BROOKS, 2011).

Ein sekundäres Glaukom hat eine klar ersichtliche Ursache für den erhöhten Augeninnendruck: Zum Beispiel eine Linsenluxation oder eine intraokulare Neoplasie, vor allem Neoplasien an Iris oder Ziliarkörper können den Abfluss des Kammerwassers blockieren (UTTER u. BROOKS, 2011). Darüber hinaus ist bei Pferden, die an ERU erkrankt sind, sowohl im akuten Schub als auch in der Ruhephase zwischen zwei Schüben, bei Pferden, die älter als 15 Jahre sind und bei Pferden der Rasse Appaloosa, das Risiko ein Glaukom zu entwickeln, erhöht (UTTER u. BROOKS, 2011).

#### 2.5.4 Symptome

Die Diagnose Glaukom kann entweder anhand eines Augeninnendrucks, der höher als 28 mmHg ist, oder anhand der ersten klinischen Anzeichen eines Glaukoms gestellt werden. Der intraokulare Druck ist jedoch nicht immer gleichbleibend erhöht. Es gibt individuelle Schwankungen und sogar Schwankungen im Tagesverlauf. Wichtig ist eine häufige Messung des Augeninnendrucks und die Dokumentation. Es sollte möglichst immer unter den gleichen Bedingungen gemessen werden (STEIFF, 1996; UTTER u. BROOKS, 2011): vom gleichen Untersucher, zur gleichen Tageszeit, da nach einer Studie der Augeninnendruck abends höher ist als morgens (VAN DER WOERDT et al., 2000), bei annähernd gleicher Kopf-Hals-Haltung und nicht am sedierten oder aufgeregten Pferd, da unter Sedation und Lokalanästhesie der Augeninnendruck sinkt (VAN DER WOERDT et al., 2000) und bei Aufregung steigt (UTTER u. BROOKS, 2011). Unter Umständen kann es notwendig sein, mehrmals am Tag den intraokularen Druck zu messen, um milde transiente Erhöhungen im Anfangsstadium eines Glaukoms feststellen zu können (UTTER u. BROOKS, 2011).

Die ersten klinischen Anzeichen sind ebenfalls von subtiler Natur: Oft zeigen die betroffenen Pferde keine deutlichen Schmerzäußerungen, sondern nur geringgradigen Blepharospasmus und nur geringgradig dilatierte Pupillen. Nicht selten wird ein Glaukom erst bemerkt, wenn eine partielle oder komplette Hornhauttrübung oder sog. Bändertrübungen, bandartige Hornhauttrübungen, auftreten. Die weiteren Symptome, die bei einem Glaukom beobachtet werden können, variieren individuell in Schwere- und Ausprägungsgrad; die wichtigsten sind folgende (DRIESSEN, 2009; TÓTH u. HOLLRIEDER, 2010; UTTER u. BROOKS, 2011):

- episklerale und konjunktivale Hyperämie

- partielles oder komplettes diffuses Hornhautödem, vor allem ein vertikal begrenztes Hornhautödem ist ein Kardinalsymptom eines Glaukoms im Anfangsstadium
- sog. Bändertrübungen, Haab-Linien, als sichtbares Zeichen von Teiltrüturen der Descemet-Membran, bei einem akuten Glaukom sind sie ödematöser Natur, bei einem chronischen Glaukom ist im getrübbten Bereich der Hornhaut eine Fibrose der Descemet-Membran entstanden
- oberflächliche Gefäßeinsprossung in der Kornea
- mittelgradig dilatierte, starre Pupille
- Subluxation oder Luxation der Linse
- Netzhautdegeneration
- Atrophie des Discus nervi optici
- Hydrophthalmus, Buphthalmus
- Symptome einer chronischen Uveitis: Miosis, Synechia posterior, Iris bombans

Bei einem chronischen Glaukom schreitet die Retinadegeneration immer weiter fort, es endet mit dem vollständigen Visusverlust. Im Verlauf können immer wieder schmerzhaftes Episoden und Verschlechterung der Symptome auftreten (UTTER U. BROOKS, 2011).

### 2.5.5 Therapie

Da die Mechanismen, die zur Obstruktion der Kammerwasser ableitenden Wege und somit zum erhöhten Augeninnendruck führen, noch nicht gut genug verstanden sind, kann nur mittels symptomatischer Therapie versucht werden, die Kammerwasserproduktion zu verringern und gleichzeitig eine Iridozyklitis zu verhindern, bzw. zu therapieren. Zu Beginn der drucksenkenden Therapie erzielt man oft gute Erfolge, der intraokulare Druck sinkt. Bei manchen Patienten kann sogar für eine gewisse Zeit die Sehfähigkeit teilweise zurück erlangt werden. Die Langzeitprognose für den Visuserhalt ist jedoch, vor allem bei rein konservativer Therapie, sehr vorsichtig zu stellen. Appaloosas haben grundsätzlich eine deutlich schlechtere Prognose (UTTER u. BROOKS, 2011).

Im Rahmen einer konservativen Therapie muss der intraokulare Druck gesenkt werden und sofern eine Uveitis vorliegt, muss diese unbedingt therapiert werden (UTTER u. BROOKS, 2011). Dazu zählt die lokale und systemische Verabreichung von Antiphlogistika und die lokale Verabreichung

eines Mydriatikums wie im Kapitel 2.3.1.5 *Therapie der Uveitis* beschrieben.

Zur drucksenkenden Therapie zählt die lokale Verabreichung von Timolol maleate (0,5%), einem Beta-Blocker, der die Bildung von zyklischem Adenosin-Monophosphat (cAMP) durch das Enzym Adenylcyclase hemmt und somit die Produktion des Kammerwassers verringert. Bisher gibt es jedoch nur Studien an gesunden Pferden (UTTER u. BROOKS, 2011; VAN DER WOERDT et al., 2000). Weiterhin kann mit Carboanhydrase-Hemmern die Kammerwasserproduktion verringert werden. Das Enzym Carboanhydrase befindet sich im Ziliarkörper und ist entscheidend an der Produktion des Kammerwassers beteiligt. Studien ergaben, dass die zwei mal täglich lokale Applikation des Carboanhydrase-Hemmers Dorzolamid (2%) sowohl alleine als auch in Kombination mit Timolol maleate den intraokularen Druck um bis zu 10% senken kann (UTTER u. BROOKS, 2011; WILLIS et al., 2001).

Der Einsatz von Atropin als Mydriatikum ist durchaus sinnvoll: Es gibt Studien, die beschreiben, dass Atropin einmal täglich verabreicht keinen Effekt auf den intraokularen Druck hat, aber eine Mydriasis auslöst (MUGHANNAM et al., 1999). HERRING et al. (2000) beschreiben, dass Atropin zwei mal täglich verabreicht in 10 von 11 Fällen zu einer Reduktion und in einem Fall zu einer Erhöhung des Augeninnendrucks geführt hat.

Der Einsatz von Antiphlogistika empfiehlt sich um, eine Iridozyklitis zu kontrollieren, die maßgeblich zu einer Erhöhung des intraokularen Drucks beiträgt (UTTER u. BROOKS, 2011). Bei intakter Hornhaut können lokal steroidale, ansonsten nichtsteroidale Antiphlogistika eingesetzt werden. Auch systemisch sollten nicht-steroidale Antiphlogistika verabreicht werden (TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Es sollte jedoch nicht als Dauermedikation angewandt werden, da Komplikationen wie Magenulzera, Nierenerkrankungen und rechte dorsale Kolitis (*right dorsal colitis*) auftreten können (UTTER u. BROOKS, 2011).

Als letzte Möglichkeit kann bei einem bereits erblindeten schmerzhaften Auge eine intravitreale Gentamicin-Injektion durchgeführt werden. Es werden 25mg Gentamicin und 1mg Dexamethason in den Glaskörper injiziert. Dadurch kommt es zu einer Ablation des Ziliarkörpers; das Dexamethason wirkt der gleichzeitig auftretenden Entzündungsreaktion entgegen. Im folgenden entsteht eine Phthisis bulbi, es kommt es zu einer Senkung des intraokularen Drucks und zur Schmerzfreiheit. In manchen Fällen reicht eine einmalige Injektion nicht aus und muss wiederholt werden (KÖNIG et al., 2003; UTTER u. BROOKS, 2011).

Wenn der Versuch einer konservativen Therapie keinen Erfolg erzielt, ist eine chirurgische Therapie indiziert (DRIESSEN, 2009; TÓTH u. HOLLRRIEDER, 2010). Bei einem Pferd mit Glaukom, bei dem der Visus noch erhalten ist, kann eine Laser-Zyklophotokoagulation durchgeführt werden.

Dabei werden mittels Laser Energie (man verwendet einen Dioden-Laser) Teile des Epithels und des Stromas des Ziliarkörpers, vor allem im Bereich der Pars plicata, zerstört und somit die Kammerwasserproduktion reduziert (LASSALINE u. BROOKS, 2005; UTTER u. BROOKS, 2011). In der Regel wird die transsklerale Laserzyklokoagulation angewandt (MORREALE et al., 2007; DRIESSEN, 2009) und nach zwei bis vier Wochen post operationem ist mit einer Drucksenkung zu rechnen (LASSALINE u. BROOKS, 2005). Direkt nach der Operation liegt die Erfolgsquote bei etwa 93 % bezogen auf die Reduktion des intraokularen Drucks; sie sinkt jedoch mit der Zeit ab und liegt etwa 20 Wochen post operationem bei etwa 70% ab. Es könnte zum einen daran liegen, dass sich der Ziliarkörper regeneriert und zum anderen daran, dass der Verschluss der Kammerwasser ableitenden Wege weiter fortgeschritten ist (DRIESSEN, 2009; WHIGHAM et al., 1999). Es muss individuell entschieden werden, ob eine zweite transsklerale Laserzyklokoagulation notwendig ist (MILLER et al., 1995). Mögliche unerwünschte Begleiterscheinungen sind gerötete Konjunktiven, Chemosis, Blepharospasmus, oberflächliche Hornhautulzera (WHIGHAM et al., 1999) im Sinne einer leicht entzündlichen Reaktion (NASISSE et al., 1992). MILLER et al. (1995) beschreibt Fibringerinnsel in der vorderen Augenkammer und in einem von zehn Fällen ein Hyphäma. Außerdem kann eine Phthisis bulbi und nach einigen Monaten oder Jahren sogar eine Katarakt entstehen (MILLER et al., 1995; WHIGHAM et al., 1999).

Bei bereits erblindeten Augen besteht die Möglichkeit der Stickstoff induzierten Zyklokryotherapie. Hierbei wird ebenfalls der Ziliarkörper verödet. Der Nachteil dieser Therapie ist, dass postoperativ häufig eine schwere Iridozyklitis entsteht und der drucksenkende Effekt nur für etwa sechs Wochen anhält, dann muss das Verfahren wiederholt werden (UTTER u. BROOKS, 2011).

Unter experimentellen Bedingungen wurde bereits versucht, die Kammerwasser ableitenden Wege mit einer Art By-Pass Operation zu umgehen. Es wurde ein künstlicher Abflussweg für das Kammerwasser geschaffen (DRIESSEN, 2009; UTTER u. BROOKS, 2011). Allerdings kommt es sehr schnell zu einer Fibrosierung des künstlich neu geschaffenen Abflusses (LASSALINE u. BROOKS, 2005). Erfolgsversprechend ist diese Operation nur in Kombination mit einer Laserzyklokoagulation, da kurzfristig der intraokulare Druck durch den neu geschaffenen Abfluss und langfristig durch die Verödung des Ziliarkörpers gesenkt wird (UTTER u. BROOKS, 2011).

Wenn auch die chirurgische Intervention nicht zum Erfolg führt und das Auge weiterhin schmerzhaft ist, besteht die Indikation zur Enukleation des betroffenen Auges. Ebenso sollte mit Augen verfahren werden, die ein Glaukom auf Grund einer intraokularen Infektion, intraokularen Tumoren oder einer schmerzhaften Linsenluxation entwickelt haben. Bereits erblindete weiterhin

schmerzhaftes Auge und Augen, die einen schweren Buphthalmus zeigen sollten ebenso enukleiert werden (DRIESSEN, 2009; UTTER und BROOKS, 2011).

### **3 Material und Methode**

#### **3.1 Patientengut**

Im Zeitraum von August 2011 bis März 2012 wurden in der Chirurgischen Abteilung der Klinik für Pferde der Ludwig Maximilians-Universität München 100 Augen von 91 Pferden untersucht. Auf Grund der klinischen Untersuchung wurde bei 74 Augen von 68 Pferden die Diagnose equine rezidivierende Uveitis gestellt. Bei 9 Augen von 9 Pferden konnte ein Glaukom festgestellt werden. Bei 7 Augen (7 Pferde) wurde eine Uveitis diagnostiziert, die sich nicht wie eine typische ERU darstellte. Als Kontrolle wurden 10 Augen von 7 Pferden untersucht. Sie waren bei der klinischen ophthalmoskopischen Untersuchung ohne besonderen Befund, sodass diese Pferde als klinisch augengesund bezeichnet werden konnten.

Im Rahmen der Anamnese wurde festgestellt, wann den Besitzern aufgefallen war, dass die Pferde an einer Augenerkrankung litten und wie groß der Abstand zum letzten Entzündungsschub war. Die klinische Augenuntersuchung beinhaltete neben der Adspektion der Augenumgebung und der Augenlider die Untersuchung mit einer fokalen Lichtquelle, gegebenenfalls mit einer Kopfbandlupe, sowie die Untersuchung mit dem Ophthalmoskop und in Einzelfällen eine ultrasonografische Untersuchung. In Verdachtsfällen wurde mit einem Applanationstonometer der Augeninnendruck bestimmt.

Zu Beginn der Untersuchung wurden adspektorisch die Augenumgebung und die Augenlider beurteilt sowie die Reaktion auf Drohgebärden überprüft um die Sehfähigkeit zu testen.

Im abgedunkelten Raum wurden unter Zuhilfenahme der fokalen Lichtquelle („Hammerlampe“, Fa. Karl Zeiss) und gegebenenfalls der Kopfbandlupe Konjunktiven, Sklera, Hornhaut, vordere Augenkammer, vordere Linsen kapsel, Linse und die Pupillarreaktion auf einfallendes Licht untersucht. Mit dem direkten Ophthalmoskop („BETA 200“, Fa. Heine) wurden die Linsenrückfläche, der Glaskörperraum und der Augenhintergrund untersucht. Für diese Untersuchungen wurde ein Mydriatikum („Mydriaticum Stulln“, Fa. Pharma Stulln, Stulln) appliziert, um die Pupille weit zu stellen. Wenn die Strukturen im Augeninneren auf Grund von

Hornhauttrübungen, Linsentrübungen, massiven Ergüssen in die vordere Augenkammer oder totaler Miosis nicht einsehbar waren, wurde eine ultrasonographische Untersuchung durchgeführt (Logic P6, GE Healthcare, Fa. Scil, Viernheim), um Veränderungen im Augeninneren darzustellen. Wenn Verdacht auf ein Glaukom bestand, wurde mittels Applanationstonometer (Tono-Pen XL ®) der Augeninnendruck bestimmt.

Die Diagnose equine rezidivierende Uveitis wurde gestellt, wenn auf Grund des Vorberichts sicher von mindestens einem voran gegangenen entzündlichen Schub im Sinne einer Uveitis ausgegangen werden konnte und ein oder mehrere der folgenden Symptome einer akuten oder chronischen Uveitis festgestellt werden konnten: Abgesehen von Blepharospasmus, Epiphora, geröteten Konjunktiven, diffuser Hornhauttrübung, auch Entzündungsprodukte in der vorderen Augenkammer ohne Hinweise auf ein Trauma, Miosis, hintere Synechien, sekundäre fokale oder vollständige Linsentrübung, Präzipitate auf der Linsenrückfläche, Entzündungsprodukte im Glaskörper, Glaskörpertrübung, Netzhautfalten oder -ablösung, chorioretinale Narben oder Bulbusatrophie in Folge einer Uveitis. Bei diesen Patienten wurde zu therapeutischen Zwecken eine Pars plana – Vitrektomie nach WERRY u. GERHARDS (1992) durchgeführt. Die Operation erfolgte nach Abklingen des akuten Entzündungsgeschehens. Die Vorbehandlung der Patienten erfolgte über einen Zeitraum von drei Tagen unmittelbar vor der OP. Es wurde systemisch zweimal täglich ein nicht-steroidales Antiphlogistikum per os (Butasan®, Fa. Vetoquinol GmbH, Ravensburg oder Equioxx®, Fa. Merial GmbH, Hallbergmoos) verabreicht. Lokal wurden ebenfalls zweimal täglich eine dexamethasonhaltige Augensalbe (Corti Biciron®, Fa. S & K Pharma, Schumann und Kohl GmbH, Rüdersdorf) und atropinhaltige Augentropfen (Atropin POS 1% Augentropfen®, Fa. Ursapharm, Saarbrücken) appliziert. In Fällen mit besonders schwerer Entzündung, hinterer Synechie oder totaler Miosis wurde atropinhaltige Augensalbe (1%ige Atropin-Augensalbe, Fa. Kaulbach-Apotheke, München) eingesetzt und die Augensalben mehrmals täglich verabreicht. Im Rahmen der Vitrektomie wurden dann die Glaskörper-Proben zur zytologischen und zur histologischen Untersuchung gewonnen.

Wenn die Patienten eine innere Augenentzündung zeigten oder vorberichtlich an einer inneren Augenentzündung erkrankt waren, bei der klinischen Untersuchung jedoch keine Veränderungen im Sinne der typischen ERU festgestellt werden konnten, wurden sie als „sonstige Uveitis“ eingeordnet (im Folgenden als Uveitis bezeichnet). Diese Patienten zeigten sowohl bei der klinischen Untersuchung als auch im Vorbericht deutliche Unterschiede zu den Patienten, die an ERU erkrankt waren (siehe auch WOLLANKE, 2002). Diese Fälle werden im Ergebnisteil detailliert beschrieben.



Wenn ein erhöhter Augeninnendruck festgestellt werden konnte, wurde die Diagnose Glaukom gestellt. Alle diese Patienten zeigten klinisch eine Hornhauttrübung und einen erhöhten Augeninnendruck von durchschnittlich 65 mmHg (Standardabweichung 23 mmHg). Diese Pferde waren in der Regel mit nichtsteroidalen (Vexol®, Fa. Alcon GmbH, Freiburg) und drucksenkenden Augentropfen (Cosopt®, Fa. Chibret pharmazeutische GmbH, Haar) sowie atropinhaltigen Augentropfen (Atropin POS 1% Augentropfen®, Fa. Ursapharm, Saarbrücken) vorbehandelt. Bevor der Augeninnendruck gemessen werden konnte, wurde lokal ein Oberflächenanästhetikum verabreicht (Ophthocain®, Fa. Winzer Pharma GmbH, Berlin).

Bei den Patienten, die an einem Glaukom oder einer „sonstigen Uveitis“, die sich nicht wie eine typische ERU darstellte, litten, wurde entweder ebenso im Rahmen einer Pars plana-Vitrektomie oder aber nach der Bulbusexstirpation Glaskörpermaterial unter sterilen Bedingungen entnommen.

10 Kontrollproben stammen von 7 Pferden, die auf Grund der klinischen Augenuntersuchung als augengesund eingestuft wurden. Sie mussten aus anderen Gründen euthanasiert werden. Unmittelbar post mortem wurde das Auge entnommen und danach unter sterilen Kautelen das Probenmaterial gewonnen.

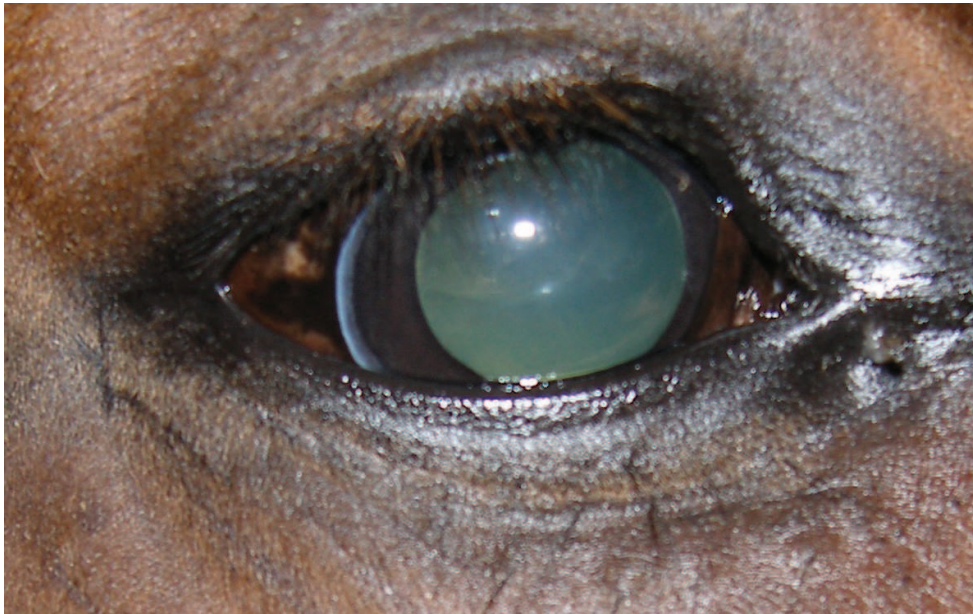
Insgesamt gingen 36 Stuten, 50 Wallache und 5 Hengste als Patienten sowie 3 Stuten und 4 Wallache als Kontrollpferde in die Untersuchung ein. Die Patienten befanden sich im Alter zwischen zwei und 24 Jahren. Das Durchschnittsalter der Pferde mit ERU betrug 8 Jahre, das der Pferde mit Glaukom 16 und das der Pferde mit „sonstiger Uveitis“ 11 Jahre. Die Pferde in der Kontrollgruppe waren zwischen zwei und 30 Jahren, im Mittel 17 Jahre, alt. In der Gruppe der Pferde mit ERU befanden sich 10 Islandpferde, 2 Friesen, 2 Araber, 6 Ponys, 2 Tinker, ein Vollblut- und 50 Warmblutpferde. Fünf Warmblutpferde, ein Appaloosa und ein Knabstrupper zeigten eine Uveitis, die nicht wie eine typische ERU aussah. An einem Glaukom litten 10 Warmblutpferde, ein Tinker und ein Islandpferd. In der Kontrollgruppe befanden sich zwei Ponies, ein Haflinger und 4 Warmblutpferde.

**Tab. 3.1:** Patientengut

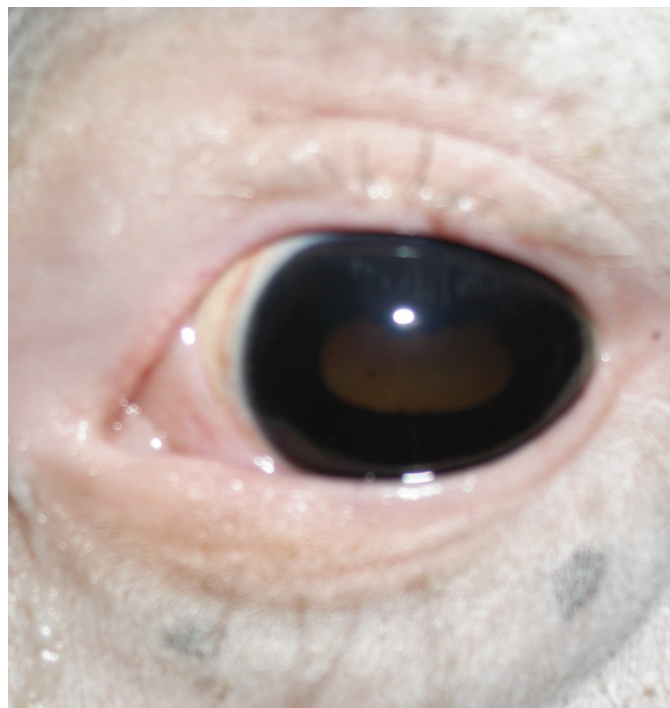
	ERU	Glaukom	sonstige Uveitis	Kontrolle	Gesamt
Anzahl Augen	74	9	7	10	100
Anzahl Pferde	68	9	7	7	91
Hengste	5				5
Stuten	27	2	4	3	36
Wallache	36	7	3	4	50
Durchschnittliches Alter	8	16	11	17	10
Warmblut	46	7	5	4	62
Vollblut	1				1
Islandpferd	9	1			10
Friese	2				2
Tinker	2	1			3
Knabstrupper			1		1
Araber	2				2
Pony	6			2	8
Appaloosa			1		1
Haflinger				1	1

Basierend auf der klinischen Augenuntersuchung wurde zuerst die Diagnose gestellt und dann der Grad der diffusen Glaskörpertrübung und der Einlagerungen im Glaskörper bestimmt. Es wurde unterschieden zwischen keiner sichtbaren Trübung oder Einlagerungen (Stufe 0), geringgradigen (Stufe 1), mittelgradigen (Stufe 2) und hochgradigen (Stufe 3) Trübung oder Einlagerungen. Weiterhin wurden die Pferde, die an einer Uveitis litten nach der Länge des Abstand zum vorangegangenen Entzündungsschub in Gruppen eingeteilt. Pferden in der Gruppe 0 befanden sich zum Untersuchungszeitpunkt in einem zeitlichen Abstand unmittelbar nach Beginn des akuten Schubes und wurden mit akuter mittel- bis hochgradiger Uveitis vorgestellt, bzw. der Beginn des letzten akuten Entzündungsschubs war innerhalb der letzten sieben Tage vor der Untersuchung. Pferde der Gruppe 1 befanden sich zwischen Tag 8 und Tag 14 nach Beginn des letzten akuten Entzündungsschubs, die der Gruppe 2 zwischen Tag 15 und Tag 28, die der Gruppe 3 zwischen Tag

29 und Tag 56 und die Pferde der Gruppe 4 hatten vor mehr als 57 Tagen den letzten Entzündungsschub. Alle Patienten wurde nach der Untersuchung drei Tage behandelt (siehe oben) und dann operiert.



**Abb. 3.2:** Patient mit akuter ERU, vor der OP; Glaskörpereinlagerungen und -trübung zu erkennen



**Abb. 3.3:** Patient im Ruhestadium; Glaskörpertrübung und Irisresiduen zu erkennen.



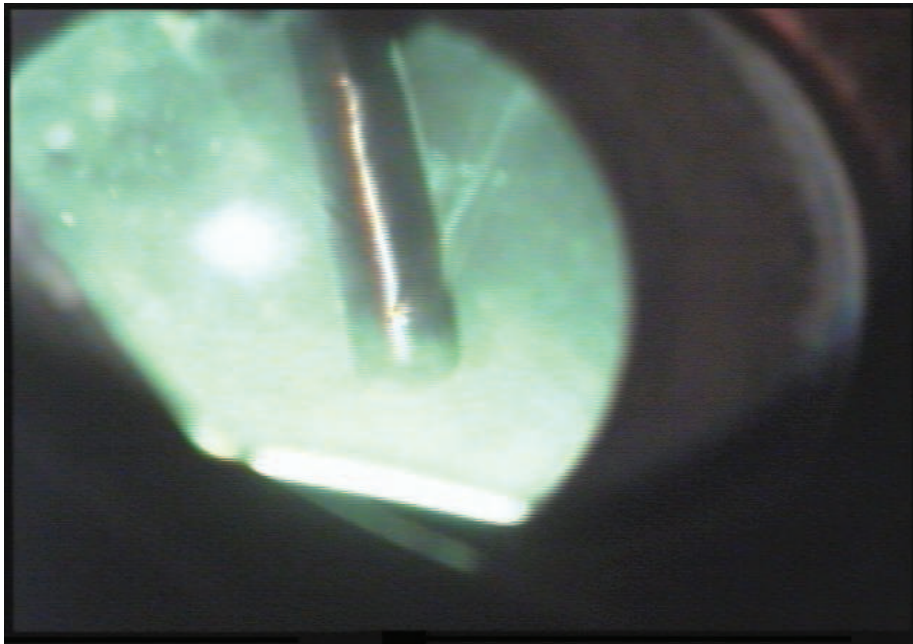
*Abb. 3.4: Patient im Endstadium der ERU; Glaskörpertrübung, Synechia posterior, Neovaskularisation der Kornea zu sehen; der Augapfel ist bereits verkleinert*

### 3.2 Probengewinnung

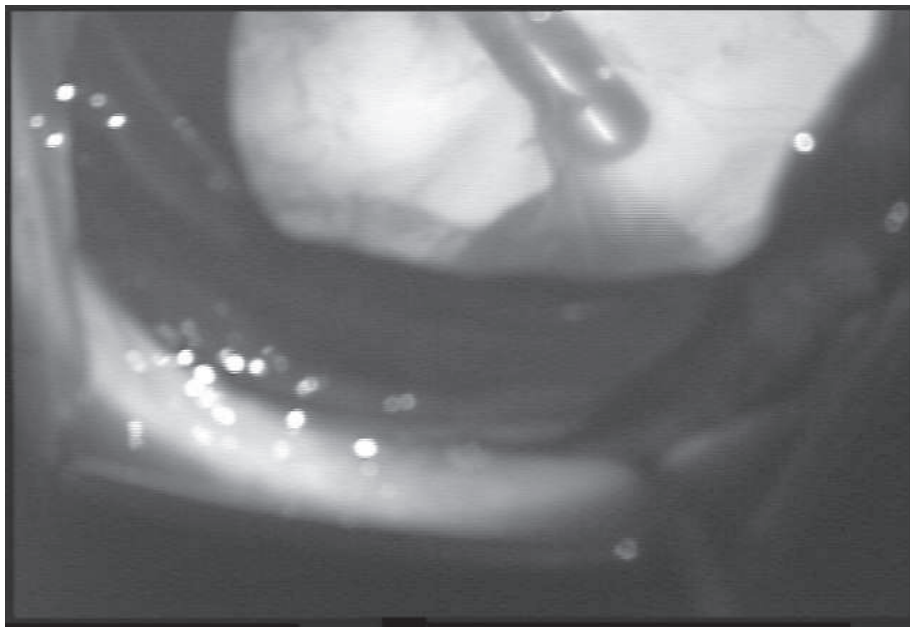
Im Rahmen der Vitrektomie konnten die Glaskörper-Proben steril entnommen werden. Es wurden immer etwa 4-5 ml des unverdünnten Glaskörpermaterials zu Beginn der Operation aus dem Zentrum des Glaskörpers abgenommen. Die Entnahme erfolgte nach Einführung der Vitrektomieklinge im Bereich der Pars plana 14 mm entfernt vom Limbus im vorderen dorsalen Bereich hinter der Linse.

Bei den augengesunden Pferden wurden unmittelbar nach der Euthanasie die Augen enukleiert. Der Bereich der Pars plana wurde vorsichtig freipräpariert und unter sterilen Kautelen wurde mit einem großlumigen Venenverweilkatheter eingegangen und wie bei der therapeutischen Vitrektomie Glaskörpermaterial aspiriert.





**Abb. 3.5:** Probenentnahme im Rahmen der Vitrektomie: Die Spitze des Cutters befindet sich hinter der Linse im Glaskörperraum. Die in die Öffnung des Instruments eingesaugten Entzündungsprodukte und Glaskörpergerüst (Glaskörpereinlagerungen) werden zerkleinert, damit sie entfernt werden können. Auf dem Bild sind eingesaugt Glaskörperstränge zu erkennen.



**Abb. 3.6:** Operationssituation wie zuvor (s. Abb. 3.5). Hier werden gerade dicke entzündliche Einlagerungen aus dem Glaskörper entfernt, die sich ventral auf dem Ziliarkörper befinden.

### 3.3 Probenaufbereitung

#### 3.3.1 Histologische Untersuchung

Zur histologischen Untersuchung wurde 0,8 - 1 ml der Glaskörperproben innerhalb weniger Minuten im Verhältnis 1:3 mit 4%igem Formalin fixiert. Im Labor wurde die Probe über einen Filter gegeben, um das fixierte Glaskörpermaterial zu erhalten. Dies wurde darauf folgend in einer Alkoholreihe (TES 1 Pathisto) entwässert und danach in Paraffin eingebettet. Aus den Paraffinblöcken wurden mit dem Mikrotom (Microm HM 200) 4µm dicke Schnitte angefertigt. Sie wurden auf spezielle Objektträger (Superfrostobjektträger Plus, Fa. Langenbrink, Emmendingen) verbracht und danach in einem Färbeapparat (AS 1, Fa. Wendt) mit einer Haematoxylin-Eosin-Färbung versehen (Mayer's Haematoxylin (unclear staining solution) und Eosin 1% aqueous solution, Fa. Bio Optika, Mailand). Die Schnitte wurden dann im Lichtmikroskop (Olympus BX 51, Fa. Olympus, Hamburg) beurteilt und ausgewertet.

#### 3.3.2 Zytologische Untersuchung (Zytozentrifugation)

Ein Teil der Proben wurde zusätzlich zytologisch untersucht. Hierfür wurden 13 Augen mit ERU verwendet. Für die zytologische Untersuchung wurde ebenfalls 0,8 – 1 ml der Glaskörperprobe verwendet. Den Proben wurde innerhalb 15 Minuten nach der Entnahme bovines Serum-Albumin (BSA) zugesetzt, um unspezifische Bindungen an der Kunststoffoberfläche zu verringern. Danach wurden die Proben halbiert: einem Teil wurde Accutase (Stem pro® Accutase, Cell dissociation reagent, Fa. Live Technologies, Grand Island, NY) zugesetzt, um eine Agglutination von Zellen zu verhindern und aufzulösen. Darauf folgend wurden beide Proben in einer Zytozentrifuge (Universal 16R, Fa. Hettich Zentrifugen, Adelsried) direkt auf die Objektträger (Objektträger mit Mattrand, Fa. Langenbrink, Emmendingen) zentrifugiert. Sie wurden danach ebenfalls in einen Färbeautomat (Humatek® Stain Pak / Slide Stainer, Fa. Siemens Healthcare Diagnostics Ltd., Primeley, Camberley, England) verbracht und mit einer modifizierten Wright's-Stain-Färbung (*Modified Wright's Stain*) versehen. Die Beurteilung erfolgte unter Zuhilfenahme des selben Mikroskops (Olympus BX 51, Fa. Olympus, Hamburg) wie bei der histologischen Untersuchung. Da DEEG et al. (2001) mittels Durchflusszytometrie keine Zellen im Glaskörpermaterial von augengesunden

Pferden feststellen konnten, wurde bei der Kontrollgruppe auf die Zytozentrifugation verzichtet.

### 3.3.3 Untersuchung auf Leptospiren

Die Glaskörperproben von den Pferden, die an einer Uveitis erkrankt waren, wurden im Rahmen der Klink-Routine zum einen mittels PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) direkt auf Leptospiren-Antigen und zum anderen mittels MAR (Mikroagglutinationsreaktion) auf Leptospiren-Antikörper untersucht. Bei negativer MAR wurde anschließend ein ELISA (Enzyme-linked-immunosorbent-assay) durchgeführt. Dies geschah in Fremdlabors. Die Untersuchung auf Leptospiren-Antikörper wurde im VetMed-Labor in Ludwigsburg, die Untersuchung auf Leptospiren-Antigen wurde im Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Oberschleißheim durchgeführt. Hierfür wurden die Proben ohne Fixierung per Kurier versandt. Diese Untersuchung erfolgte in der chirurgischen Abteilung der Klink für Pferde der Ludwig-Maximilians-Universität München routinemäßig um die Ursache der Uveitis eindeutig zu ermitteln.

Bei den Kontrollproben konnte auf diese Untersuchung auf Grund der Erkenntnisse von GESELL (2004) und von LOIBL (2009) verzichtet werden. GESELL (2004) untersuchte 168 augengesunde Pferde und einen positiven Antikörper-Titer stellte er bei nur einem der Pferde (0,6%) fest, eine positives Ergebnis bei der PCR bei 5% der Pferde. Diese Werte unterscheiden sich signifikant von den Werten bei Pferden, die an ERU erkrankt sind (MAR: 92% positiv; PCR 52% positiv). In keinem Fall konnten Leptospiren in der Kultur angezüchtet werden. Er schlussfolgert, dass eine asymptomatische Ansiedelung von Leptospiren im Glaskörper, wenn sie überhaupt möglich ist, nur in Einzelfällen vorkommt. In der Untersuchung von LOIBL (2009) konnte bei keinem der Pferde, die klinisch als augengesund eingestuft worden waren, ein positives Ergebnis in der PCR-Untersuchung auf Leptospiren sowie in der ELISA-Untersuchung auf Leptospiren-Antikörper von intraokularen Material festgestellt werden. WOLLANKE (2002) konnte ebenso feststellen, dass die intraokularen Antikörpertiter bei Pferden, bei denen klinisch eine ERU diagnostiziert werden konnte, signifikant höher sind als bei Pferden, die an anderen Augenerkrankungen litten oder für augengesund befunden worden waren. In dieser Arbeit sollten weder die Antikörper gegen Leptospiren noch ein positives oder negatives Ergebnis der PCR-Untersuchung bei der Beurteilung der Proben berücksichtigt werden; der Fokus lag auf dem klinischen Erscheinungsbild der jeweiligen Augenerkrankung.



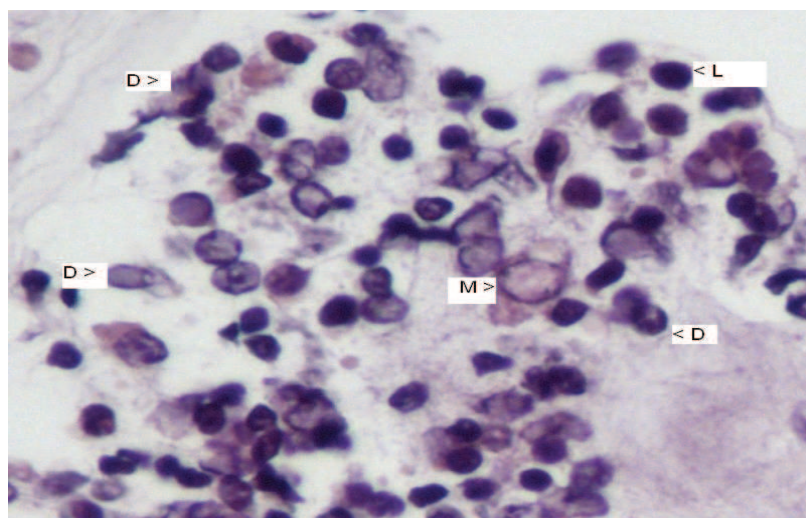
### **3.4 Auswertung**

Sowohl die histolgischen Schnitte als auch die zytologischen Präparate (Zytozentrifugation) wurden unter dem selben Mikroskop (Olympus BX 51, Fa. Olympus, Hamburg) qualitativ und semiquantitativ ausgewertet. Es wurde die Zelldichte und das Zellbild beurteilt. Es wurde unterschieden zwischen Präparaten, bei denen keine Zellen vorhanden waren und Präparaten mit geringgradiger, mittelgradiger oder hochgradiger Zelldichte. Weiterhin wurde der Anteil von Detritus, Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen an den vorhandenen intakten Zellen ermittelt (geschätzt). Wie bereits erwähnt wurden Proben, bei denen Erythrozyten zu sehen waren, als blutkontaminiert eingestuft und gingen nicht in die Auswertung ein. Alle Zellen, die nicht mehr intakt waren, wurden als Detritus eingestuft. Dazu zählen Zelltrümmer, vereinzelte Zellkerne sowie Zellen, bei denen kein Zellkern oder kein Zytoplasma vorhanden war und Zellen, die eine unregelmäßige Begrenzung aufwiesen. Aufgequollen erscheinende Zellen, sowie Zellen von abnormer Gestalt fielen ebenfalls unter Detritus. Da dieses Material nicht eindeutig den verschiedenen Zeltypen zuzuordnen war, wurde es nicht weiter differenziert und in die statistischen Überlegungen gehen nur vollständig intakte Zellen ein.

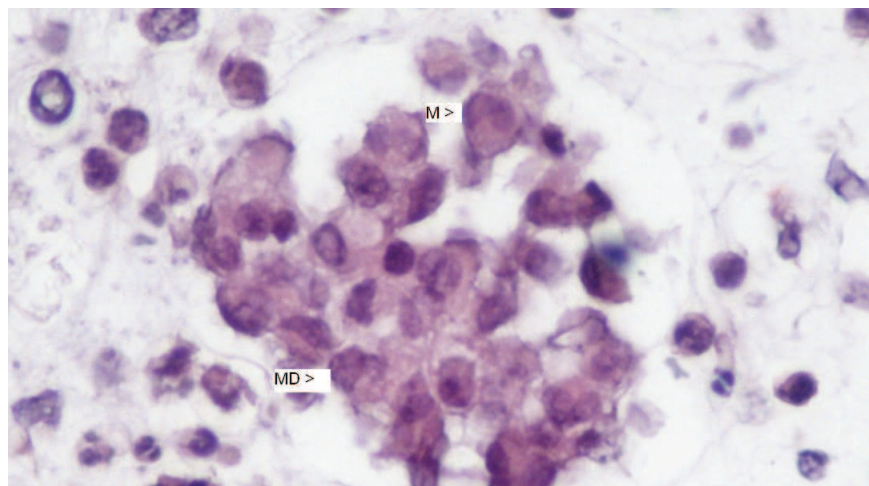
## 4 Ergebnisse

Bei den histologischen Präparaten konnte in fast allen Fällen das Kollagenfasergerüst des Glaskörpers erkannt werden. Zwischen diesen faserartigen Strukturen und am Rand dieser waren die Zellen lokalisiert. In einigen Fällen waren sehr viele Zellen auf kleinstem Raum zu sehen, sodass die Differenzierung in diesen Bereichen nicht immer zweifelsfrei möglich war. Ein recht großer Teil des Zellmaterials bestand aus degenerierten Zellen, Detritus. Bei diesem Material war es kaum möglich, den ehemaligen Zelltyp zu bestimmen. Es handelte sich um degenerierte Makrophagen, neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Plasmazellen. Unter den intakten Zellen konnten Lymphozyten, Plasmazellen, aktivierte, zum Teil binukleäre Makrophagen und in Ausnahmefällen einzelne gerade noch intakte neutrophile Granulozyten nachgewiesen werden.

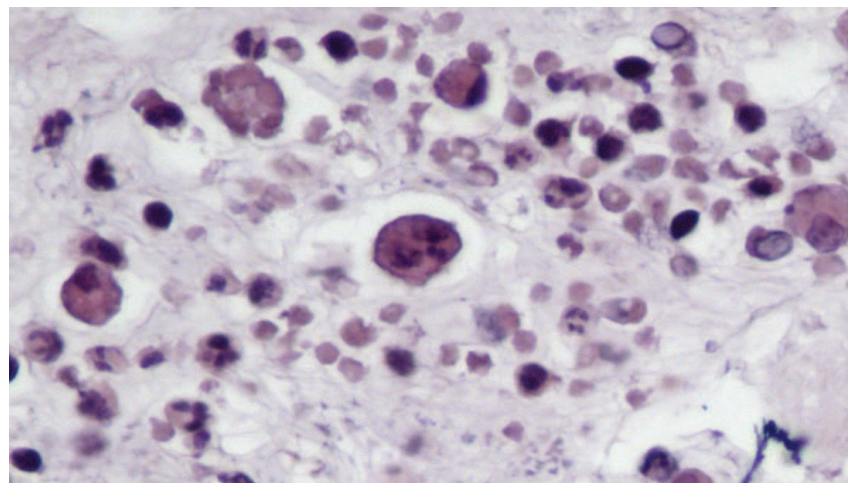
Bei den zytologischen Präparaten konnten nur dann die faserartigen Strukturen des Kollagenfasergerüsts beobachtet werden, wenn wissentlich gallertiges Glaskörpermaterial auf dem Objektträger ausgestrichen worden war. Dabei lagen die Zellen dann so dicht beieinander, dass sie kaum differenziert werden konnten. Die Zelldichte war mittel- bis hochgradig. Es konnten vor allem Makrophagen, Lymphozyten und Detritus erkannt werden. Nach der Zytozentrifugation der Glaskörperproben lagen die Zellen nicht mehr so nah nebeneinander und konnten gut differenziert werden. Diese Ergebnisse liegen den weiteren Ausführungen und Überlegungen zur zytologischen Untersuchung zu Grunde.



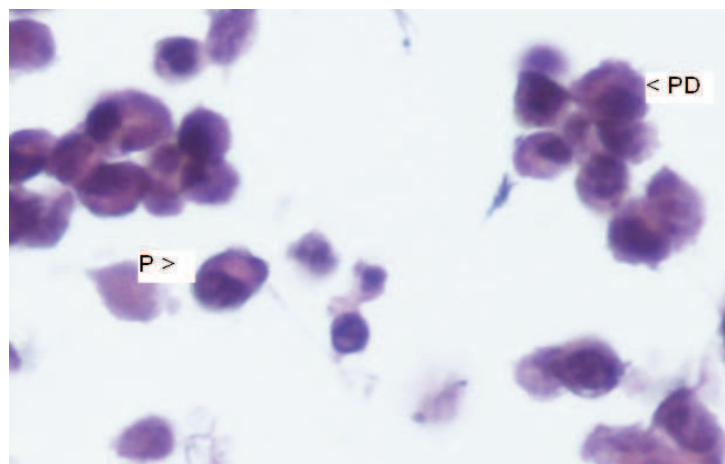
**Abb. 4.1:** Makrophagen (M), Lymphozyten (L) und Detritus (D) (Histologie; HE-Färbung; 40fach vergrößert)



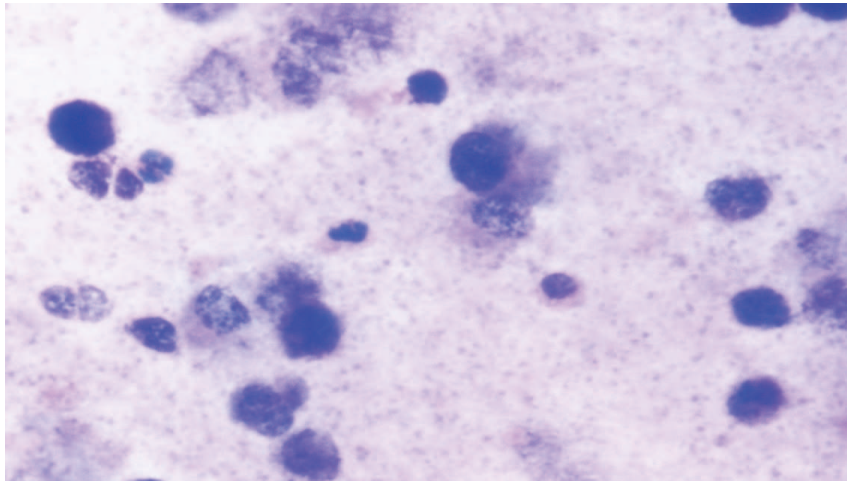
**Abb. 4.2:** Makrophagen (M), zum Teil in Degeneration (MD) (Histologie; HE-Färbung; 40fach vergrößert)



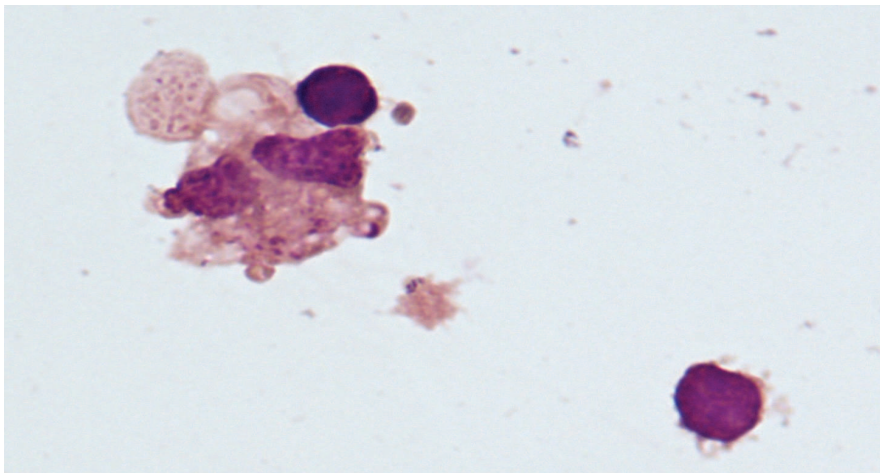
**Abb. 4.3:** Makrophagen mit Phagozytose (Zentrum) (Histologie; HE-Färbung; 40fach vergrößert)



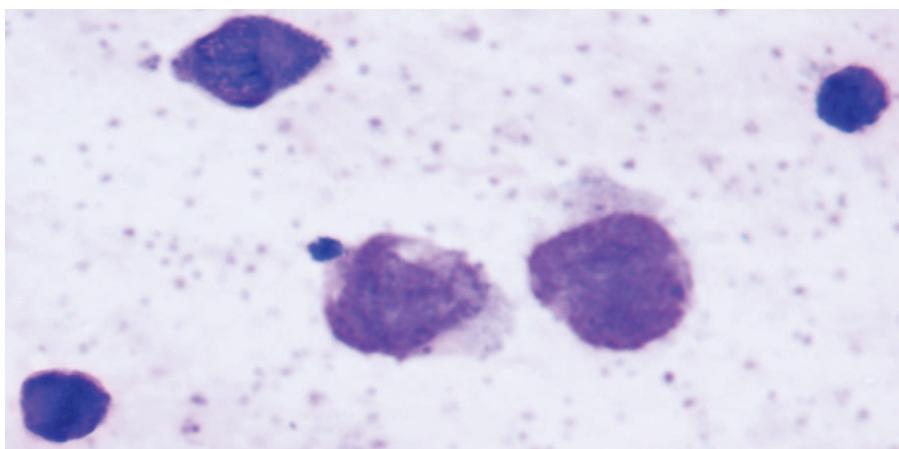
**Abb. 4.4:** Plasmazellen (P), zum Teil in Degeneration (PD) (Histologie; HE-Färbung; 40fach vergrößert)



**Abb. 4.5:** Lymphozyten und Detritus (Zytologie; Modified Wright`s Stain-Färbung; 100fach vergr.)



**Abb. 4.6:** Makrophage (binukleär; in Degeneration) und Lymphozyten (Zytologie; Modified Wright`s Stain-Färbung; 100fach vergr.)



**Abb. 4.7:** Lymphozyten und Makrophagen, zum Teil in Degeneration (Zytologie; Modified Wright`s Stain-Färbung; 100fach vergr.)



In der Kontrollgruppe wurden 10 Proben von Augen, bei denen in der klinischen Untersuchung kein besonderer Befund erhoben werden konnte, ausgewertet. Bei sieben Augen (70%) konnten keine Zellen nachgewiesen werden, bei drei Augen (30%) bestand eine geringgradige Zelldichte. Bei den Zellen handelte es sich um vereinzelt intakte Lymphozyten und um Detritus. Es besteht ein signifikanter Unterschied zu den Augen, die an ERU erkrankt waren (s. 4.4 Ergebnisse der Kontrollgruppe)

#### **4.1 Ergebnisse in der Gruppe ERU**

##### **4.1.1 Zelldichte**

##### **4.1.1.1 Zelldichte in Zusammenhang mit dem Grad der diffusen Glaskörpertrübung**

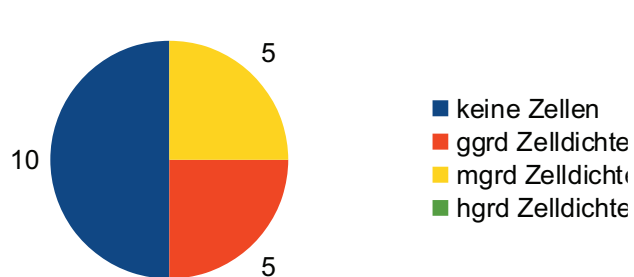
###### **a) Ergebnisse der histologischen Untersuchung**

Bei 50% der Pferde, bei denen in der klinischen Untersuchung keine diffuse Glaskörpertrübung festgestellt werden konnte, wurden auch in der histologischen Untersuchung keine Zellen gefunden. Bei den restlichen 50 % wurden zur Hälfte geringgradige oder mittelgradige Zelldichte festgestellt. Hochgradige Zelldichte konnte in keinem Fall beobachtet werden (s. Abb. 4.8). Bei Pferden mit klinisch geringgradig diffuser Glaskörpertrübung konnte in 71% der Fälle eine geringgradige (42%) oder mittelgradige (29%) Zelldichte festgestellt werden. Lediglich bei 8,33% wurden keine Zellen festgestellt. Bei 21% der Pferde wurde eine hochgradig Zelldichte festgestellt (s. Abb. 4.9) . Diese Verteilung unterscheidet sich kaum von den Verhältnisse bei klinisch mittelgradig diffuser Glaskörpertrübung. Hier konnte in 77% der Fälle eine geringgradige (41%) oder mittelgradige (36%) festgestellt werden. Bei 9% konnten keine Zellen gefunden werden und in 14% der Fälle wurde die Zelldichte als hochgradig eingestuft (s. Abb. 4.10). Ein deutlicher Unterschied besteht im Vergleich zu Pferden, bei denen klinisch eine hochgradig diffuse Glaskörpertrübung diagnostiziert wurde: Hier wiesen alle Pferde eine geringgradige (38%) oder hochgradige (63%) Zelldichte auf. Bei keinem Pferd wurden keine Zellen gefunden (s. Abb. 4.11). Somit kann man feststellen, dass mit steigender diffuser Glaskörpertrübung die Zelldichte im Glaskörperraum zunimmt und kaum

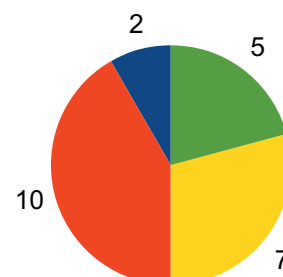
ein Unterschied in der Zelldichte bei geringgradig und mittelgradig diffuser Glaskörpertrübung besteht.

**Tab 4.1:** Häufigkeitstabelle für Zelldichte in Bezug auf den Grad der diffusen Glaskörpertrübung (Histologie)

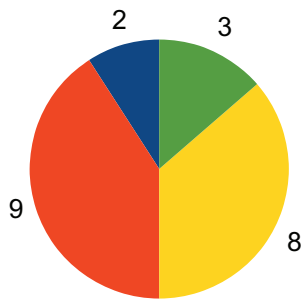
		keine Zellen	ggrd Zelldichte	mgrd Zelldichte	hgrd Zelldichte	Anzahl Tiere
keine Trübung	Anzahl	10	5	5	0	20
	%	50	25	25	0	
ggrd Trübung	Anzahl	2	10	7	5	24
	%	8,33	41,67	29,17	20,83	
mgrd Trübung	Anzahl	2	9	8	3	22
	%	9,1	40,91	36,36	13,64	
hgrd Trübung	Anzahl	0	3	0	5	8
	%	0	37,5	0	62,5	



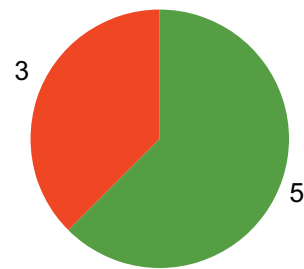
**Abb. 4.8:** Zelldichte bei keiner Glaskörpertrübung



**Abb 4.9:** Zelldichte bei ggrd. Glaskörpertrübung



**Abb. 4.10:** Zelldichte bei mgrd. Glaskörpertrübung



**Abb 4.11:** Zelldichte bei hgrd. Glaskörpertrübung

#### b) Ergebnisse der zytologischen Untersuchung (nach Zytozentrifugation)

In der zytologischen Untersuchung wiesen 50 % der Pferde, bei denen klinisch keine diffuse Glaskörpertrübung diagnostiziert wurde keine Zellen im Glaskörper auf, bei den weiteren 50% konnte eine mittelgradige Zelldichte festgestellt werden. Bei geringgradig diffuser Glaskörpertrübung wurde in 17% der Fälle eine geringgradige Zelldichte, in 50% der Fälle eine mittelgradige und in 33% der Fälle eine hochgradige Zelldichte nachgewiesen werden. Bei allen Pferden, bei denen klinisch eine diffuse Glaskörpertrübung festgestellt worden war, waren auch Zellen zu finden. Bei mittelgradig diffuser Glaskörpertrübung konnte in 50% eine mittelgradige und in 50% eine hochgradige Zelldichte beobachtet werden. Unter den Patienten mit hochgradig diffuser Glaskörpertrübung wiesen 33% eine mittelgradige und 66% eine hochgradige Zelldichte auf. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass es sich bei der zytologischen Untersuchung um sehr kleine Fallzahlen ( $n = 13$ ) handelt, kann auch hier der Trend erkannt werden, dass mit steigender Glaskörpertrübung auch die Zelldichte im Glaskörperraum ansteigt und dass sich auch bereits Zellen im Glaskörperraum befinden, wenn klinisch noch keine diffuse Glaskörpertrübung zu erkennen ist.



**Tab. 4.2:** Häufigkeitstabelle für Zelldichte in Bezug auf den Grad der diffusen Glaskörpertrübung (Zytozentrifugation)

		keine Zellen	ggrd Zelldichte	mgrd Zelldichte	hgrd Zelldichte	Anzahl Tiere
keine Trübung	Anzahl	1	0	1	0	2
	%	50		50		
ggrd Trübung	Anzahl	0	1	3	2	6
	%		17	50	33	
mgrd Trübung	Anzahl	0	0	1	1	2
	%			50	50	
hgrd Trübung	Anzahl	0	0	1	2	3
	%			33	66	

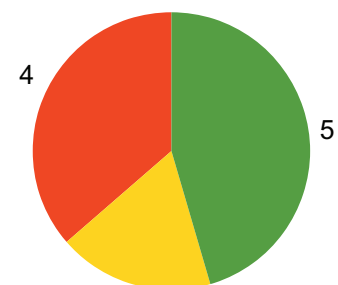
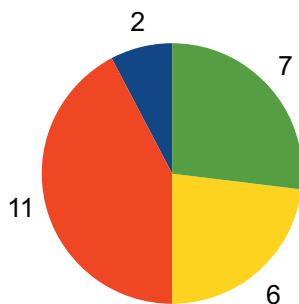
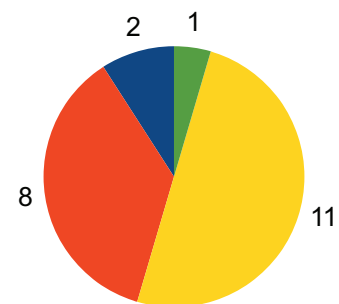
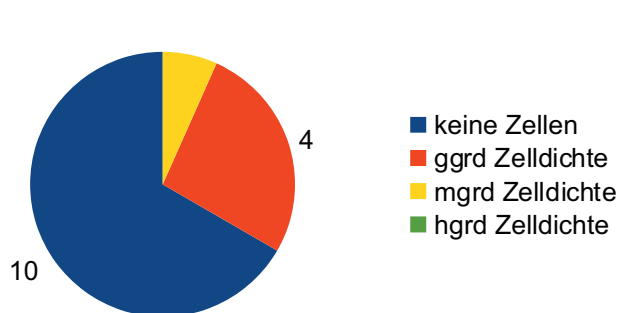
#### 4.1.1.2 Zelldichte in Zusammenhang mit dem Grad der Einlagerungen im Glaskörper

##### a) Ergebnisse der histologischen Untersuchung

In der histologischen Untersuchung konnten bei 67% der Pferde, bei denen keine Einlagerungen festgestellt werden konnten auch keine Zellen nachgewiesen werden. Bei 27% wurde eine geringgradige und bei 7% eine mittelgradige Zelldichte festgestellt (s. Abb. 4.12). Bei den Pferden mit mittelgradigen Einlagerungen wiesen 80% eine geringgradige (36%) oder mittelgradige (50%) Zelldichte auf (s. Abb. 4.13). Bei den Pferden, bei denen klinisch mittelgradige Einlagerungen aufgefallen waren, wiesen 65% eine geringgradige (42%) oder mittelgradige (23%) Zelldichte auf. Bei 27% konnte eine hochgradige Zelldichte festgestellt werden, lediglich bei 8% wurden keine Zellen beobachtet (s. Abb. 4.14). In der Gruppe der Pferde mit hochgradigen Einlagerungen im Glaskörper wiesen alle Pferde Zellen auf. Bei 18% handelte es sich um eine geringgradige, bei 36% um eine mittelgradige und bei 45% um eine hochgradige Zelldichte (s. Abb. 4.15). Somit ist erkennbar, dass der Anteil der Pferde mit hochgradiger Zelldichte mit zunehmenden Einlagerungen im Glaskörper steigt. Der Anteil der Pferde, bei denen keine Zellen im Glaskörpermaterial zu finden waren, sinkt mit zunehmenden Einlagerungen im Glaskörper.

**Tab. 4.3:** Häufigkeitstabelle für Zelldichte in Bezug auf den Grad der Einlagerungen im Glaskörper (Histologie)

		keine Zellen	ggrd Zelldichte	mgrd Zelldichte	hgrd Zelldichte	Anzahl Tiere
keine Einlagerung	Anzahl	10	4	1	0	15
	%	66,67	26,67	6,67		
ggrd Einlagerung	Anzahl	2	8	11	1	22
	%	9,1	36,36	50	4,54	
mgrd Einlagerung	Anzahl	2	11	6	7	26
	%	7,69	42,31	23,08	26,92	
hgrd Einlagerung	Anzahl	0	4	2	5	11
	%	0	18,18	36,36	45,45	



## b) Ergebnisse der zytologischen Untersuchung (nach Zytozentrifugation)

In der zytologischen Untersuchung wurden bei keinem Pferd, das klinisch keine Einlagerungen im Glaskörper zeigte, Zellen gefunden. Bei 75% der Pferde mit geringgradigen Einlagerungen wurde eine mittelgradige Zelldichte beobachtet, bei 25% konnte eine hochgradige Zelldichte festgestellt werden. Bei den Patienten, die in der klinischen Untersuchung mittelgradige Einlagerungen im Glaskörper aufwiesen, konnte bei 20% der Fälle geringgradige Zelldichte, bei 80% dagegen eine mittelgradige (40%) oder hochgradige (40%) Zelldichte nachgewiesen werden. Unter den Pferden mit hochgradigen Einlagerungen im Glaskörper wiesen 33% eine mittelgradige und 66% eine hochgradige Zelldichte auf. Trotz der geringen Fallzahl ist erkennbar, dass der Anteil der Pferde mit hochgradiger Zelldichte mit steigenden Einlagerungen im Glaskörper ansteigt. Wenn ein Pferd Einlagerungen im Glaskörper aufwies, wurden in jedem Fall auch Zellen in der zytologischen Untersuchung nachgewiesen.

**Tab. 4.4:** Häufigkeitstabelle für Zelldichte in Bezug auf den Grad der Einlagerungen im Glaskörper (Zytozentrifugation)

		keine Zellen	ggrd Zelldichte	mgrd Zelldichte	hgrd Zelldichte	Anzahl Tiere
keine Einlagerung	Anzahl	1	0	0	0	1
	%	100				
ggrd Einlagerung	Anzahl	0	0	3	1	4
	%			75	25	
mgrd Einlagerung	Anzahl	0	1	2	2	5
	%		20	40	40	
hgrd Einlagerung	Anzahl	0	0	1	2	3
	%			33	66	

#### 4.1.1.3 Zelldichte in Zusammenhang mit dem zeitlichen Verlauf der ERU

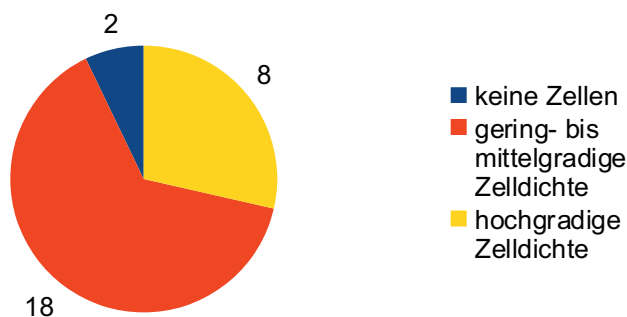
Die Zelldichte wurde auch bezüglich des zeitlichen Verlaufs der Erkrankung ausgewertet. Bei den Patienten wurde unterschieden, ob sie unmittelbar nach Beginn des akuten Entzündungsschubes (Tag 0 bis Tag 7) oder während dem entzündungsfreien Intervall zwei Schüben (Tag 9 und mehr) oder im Endstadium der ERU mit erblindeten und atrophierten Augen in der Klinik vorgestellt wurden. Somit wurde untersucht, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Abstand zum Beginn des akuten Schubes und der Zelldichte gibt. Der Abstand wird in Tagen angegeben und ist der Abstand zwischen der Untersuchung in der Klinik für Pferde der LMU und dem Beginn des akuten Schubes. Wenn das Pferd in der Ruhephase vorgestellt wurde, bezieht sich der Abstand auf den Beginn des letzten akuten Schubes.

Man kann erkennen, dass die Zelldichte im Zeitraum zwischen Tag 8 bis 14 nach Beginn des akuten Schubes am häufigsten stark erhöht ist. Nach Zusammenfassen der Gruppen mit geringgradiger und mittelgradiger Zelldichte ergibt sich nach dem exakten Test nach Fischer ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,046$ ) zur erwarteten Gleichverteilung bei der Frage nach den Tieren mit der höchsten Zelldichte (s. Tab 4.5). Tiere mit hoher Zelldichte sind überrepräsentiert im Zeitraum zwischen Tag 8 bis 14 nach Beginn des akuten Schubes.

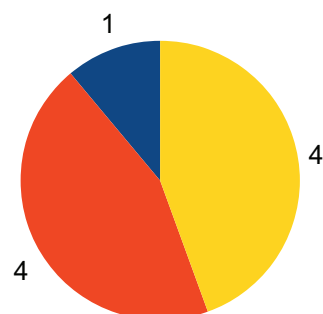
Der Anteil der Pferde mit hochgradiger Zelldichte ist im Zeitraum zwischen Tag 8 und Tag 14 am größten (s. Abb. 4.17). Der Anteil der Pferde, bei denen keine Zellen in der histologischen Untersuchung nachgewiesen werden konnten, ist im Zeitraum zwischen Tag 15 und Tag 28 sowie im Zeitraum größer 56 Tage nach Beginn des akuten Schubes am größten (s. Abb. 4.18 und Abb. 4. 20). Alle Pferde, bei denen der letzte Schub vor mehr als 29 Tagen begonnen hatte, zeigten nur noch maximal eine gering- bis mittelgradige Zelldichte (s. Abb. 4.19).

**Tab. 4.5:** Häufigkeitstabelle für Zelldichte in Bezug auf den Abstand zum Beginn des letzten Entzündungsschubes (Histologie)

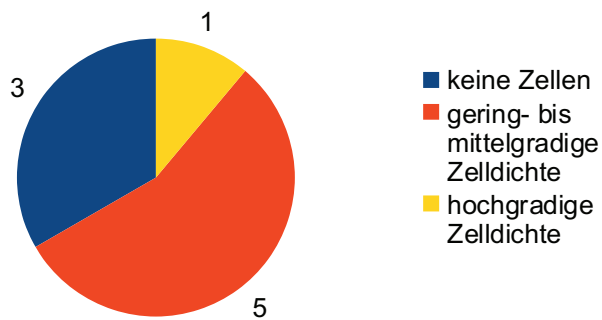
			Abstand zum Beginn des letzten akuten Schubs (angegeben in Tagen)					Gesamt
			Tag 0-7	Tag 8-14	Tag 15-28	Tag 29-56	>56 Tage	
Zelldichte	keine Zellen	Anzahl	2	1	3	1	2	9
		Erwartete Anzahl	3,9	1,3	1,3	1,7	,8	9,0
		% innerhalb der Gruppe mit dem jeweiligen Abstand	7,1%	11,1%	33,3%	8,3%	33,3%	14,1%
	gering- bis mittelgradige	Anzahl	18	4	5	11	4	42
		Erwartete Anzahl	18,4	5,9	5,9	7,9	3,9	42,0
		% innerhalb der Gruppe mit dem jeweiligen Abstand	64,3%	44,4%	55,6%	91,7%	66,7%	65,6%
	hochgradig	Anzahl	8	4	1	0	0	13
		Erwartete Anzahl	5,7	1,8	1,8	2,4	1,2	13,0
		% innerhalb der Gruppe mit dem jeweiligen Abstand	28,6%	44,4%	11,1%	0,0%	0,0%	20,3%
Gesamt		Anzahl	28	9	9	12	6	64
		Erwartete Anzahl	28,0	9,0	9,0	12,0	6,0	64,0
		% innerhalb der Gruppe mit dem jeweiligen Abstand	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%



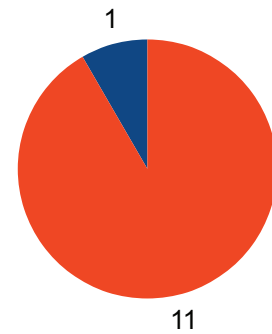
**Abb. 4.16:** Zelldichte im Zeitraum zw. Tag 0 und Tag 7 nach Beginn des akuten Schubes



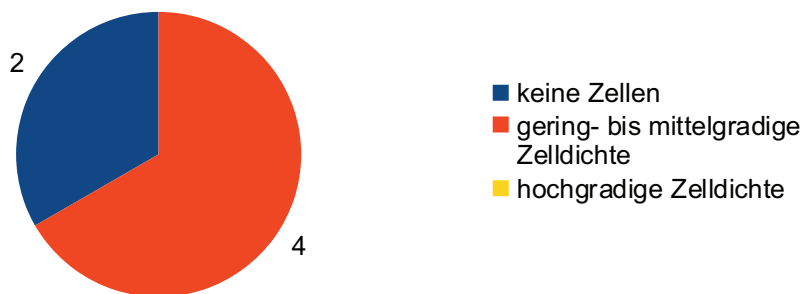
**Abb. 4.17:** Zelldichte im Zeitraum zw. Tag 8 und Tag 14 nach Beginn des akuten Schubes



**Abb. 4.18:** Zelldichte im Zeitraum zw. Tag 15 und Tag 28 nach Beginn des akuten Schubes



**Abb. 4.19:** Zelldichte im Zeitraum zw. Tag 29 und Tag 56 nach Beginn des akuten Schubes



**Abb. 4.20:** Zelldichte im Zeitraum größer 56 Tage nach Beginn des akuten Schubes

#### 4.1.2 Zellbild

Unter dem Begriff Zellbild wird die Zusammensetzung der gesamten vorhandenen Zellen verstanden. Es wurde sowohl bei der Histologie als auch bei der Zytologie der Anteil von Detritus, Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen und Makrophagen mit großen Vakuolen bestimmt (geschätzt). Daraus wurden Mittelwerte berechnet. In den histologischen Schnitten konnten aktivierte, zum Teil binukleäre Makrophagen beobachtet werden, zum Teil enthielten sie phagozytiertes Material. In die Auswertung gingen jedoch nur vollständig intakte Zellen ein. Zum Detritus zählen Zelltrümmer, Zellen, bei denen kein Zellkern oder kein Zytoplasma vorhanden war, einzelne Zellkerne sowie unregelmäßig begrenzte oder aufgequollen aussehende Zellen (s. a. Teil

## III Material und Methoden, 3.3 Auswertung).

Unter Einbeziehung aller an ERU erkrankten Patienten (74 Pferde, davon 12 histologisch und zytologisch untersucht) kann man feststellen, dass der Anteil an Lymphozyten in der Zytologie signifikant höher ist als in der histologischen Untersuchung ( $p < 0,006$ ; T-Test für verbundene Stichproben). Der Anteil der Makrophagen und Plasmazellen ist dagegen in der Histologie signifikant höher als in der Zytologie ( $p < 0,001$ ; T-Test für verbundene Stichproben). Da in der Histologie wesentlich die Einlagerungen aus den Glaskörperproben untersucht wurden und in der Zytologie der flüssigere Anteil zur Untersuchung zentrifugiert wurde, kann man daraus folgern, dass sich in den Einlagerungen mehr Makrophagen und Plasmazellen befinden als in den flüssigeren Anteilen des Glaskörpers, wo eher Lymphozyten zu finden sind.

**Tab. 4.6:** Mittelwerte der Anteile an Lymphozyten an der gesamten Zellpopulation in der histologischen (H) und in der zytologischen (Z) (Zytozentrifugation) Untersuchung

	Lymphozyten %H	Lymphozyten %Z
N	74	13
Mittelwert	38,45	63,08
Standardabweichung	27,865	37,111
Median	40,00	65,00
Minimum	0	0
Maximum	100	100

**Tab. 4.7:** T-Test für die Mittelwertgleichheit bezüglich der Anteile der Lymphozyten an der gesamten Zellpopulation in der histologischen und in der zytologischen Untersuchung (Zytozentrifugation)

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Lymphozyten %H	Varianzen sind gleich	2,408	,124	-2,791	85	,006	-24,631	8,826	-42,178	-7,084
	Varianzen sind nicht gleich			-2,283	14,471	,038	-24,631	10,790	-47,704	-1,558



**Tab. 4.8:** Mittelwerte der Anteile der Plasmazellen und Makrophagen an der gesamten Zellpopulation in der histologischen und in der zytologischen Untersuchung (Zytozentrifugation)

ZytoHisto		N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Plasmazellen %	Histo	74	22,15	19,555	2,273
	Zyto	13	2,69	3,881	1,076
Makrophagen %	Histo	74	18,70	19,587	2,277
	Zyto	13	5,00	6,770	1,878

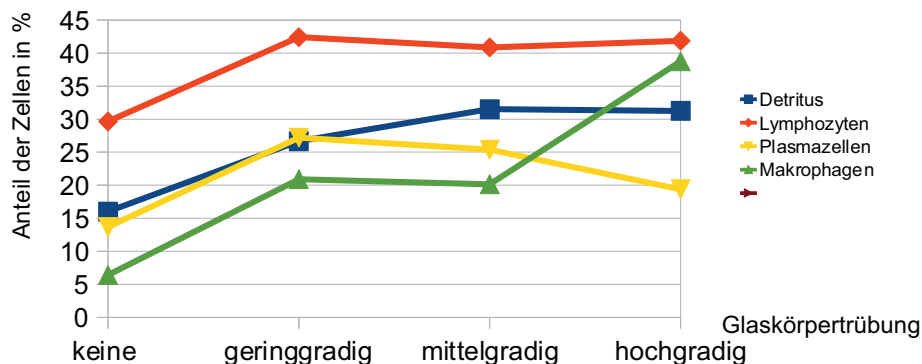
**Tab. 4.9:** T-Test für die Mittelwertgleichheit bezüglich der Anteile an Plasmazellen und Makrophagen an der gesamten Zellpopulation in der histologischen und in der zytologischen Untersuchung (Zytozentrifugation)

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Plasmazellen %	Varianzen sind gleich	15,567	,000	3,559	85	,001	19,456	5,467	8,586	30,327
	Varianzen sind nicht gleich			7,735	83,782	,000	19,456	2,515	14,454	24,458
Makrophagen %	Varianzen sind gleich	13,586	,000	2,486	85	,015	13,703	5,512	2,743	24,662
	Varianzen sind nicht gleich			4,643	54,035	,000	13,703	2,951	7,786	19,620

#### 4.1.2.1 Zellbild im Zusammenhang mit dem Grad der diffusen Glaskörpertrübung und dem Grad der Einlagerungen im Glaskörper

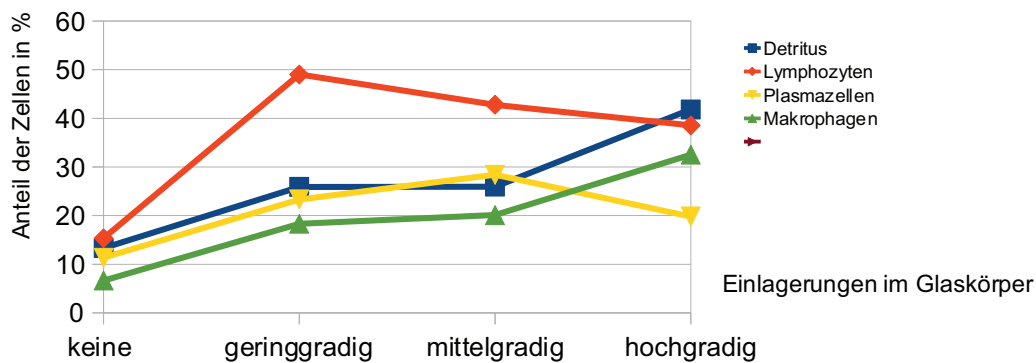
##### a) Ergebnisse der histologischen Untersuchung

Bei der histologischen Untersuchung dominierten unabhängig vom Grad der Glaskörpertrübung die Lymphozyten und die Makrophagen das Zellbild. Sowohl der Gehalt an Detritus (16%) als auch der Anteil der Lymphozyten (30%), der Plasmazellen (14%) und der Makrophagen (6%) stieg vom Ausgangswert bei keiner Glaskörpertrübung im Vergleich zu den Werten bei geringgradig diffuser Glaskörpertrübung deutlich an (auf 27% für Detritus; 42% für Lymphozyten; 27% für Plasmazellen; 21% für Makrophagen). Von geringgradig zu mittelgradig diffuser Glaskörpertrübung veränderten sich die Werte kaum: Lymphozyten und Plasmazellen sanken geringfügig ab (auf 41%, bzw. 25%), der Gehalt an Detritus stieg leicht an (auf 32%) und der Anteil der Makrophagen blieb gleich. Zur hochgradig diffusen Glaskörpertrübung stiegen die Makrophagen dann deutlich an (auf 39%), die Plasmazellen sanken ab (auf 19%) und bei Detritus und Lymphozyten war keine Veränderung zu erkennen (31%, bzw. 42%; s. Abb. 4. 21).



**Abb. 4.21:** Zellbild in Abhängigkeit von der diffusen Glaskörpertrübung (Histologie)

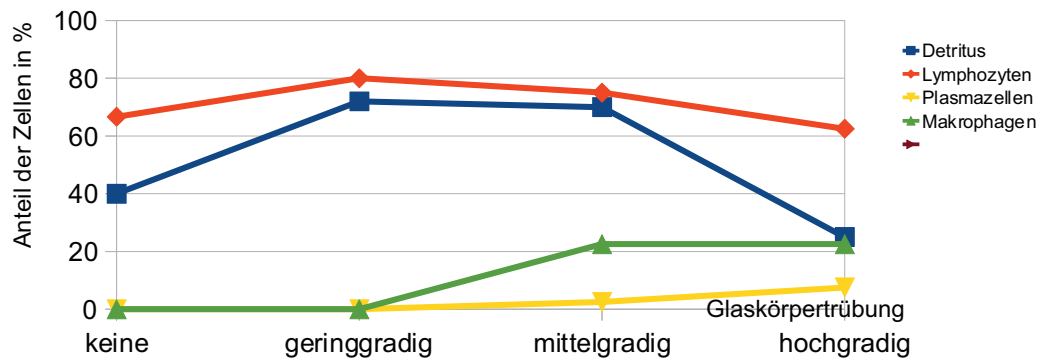
Die histologische Untersuchung bezogen auf die Einlagerungen im Glaskörper lieferte sehr ähnliche Ergebnisse für das Zellbild wie die histologische Untersuchung bezogen auf die Glaskörpertrübung.



**Abb. 4.22:** Zellbild nach Grad der Einlagerungen im Glaskörper (Histologie)

#### b) Ergebnisse der zytologischen Untersuchung (nach Zytozentrifugation)

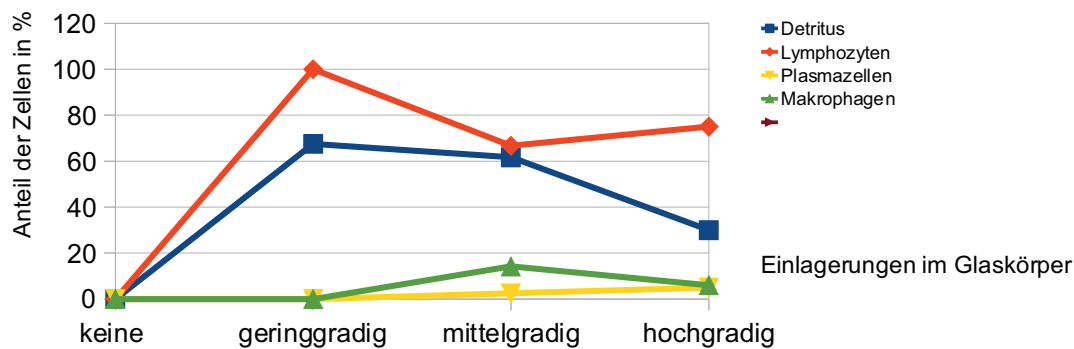
Bei der zytologischen Untersuchung waren die Ausgangswerte bei keiner Glaskörpertrübung für die Anteile der Lymphozyten (67%) und des Detritus (40%) deutlich höher als in der Histologie; Plasmazellen und Makrophagen waren keine vorhanden. Man muss also annehmen, dass in einem klinisch klar erscheinenden Glaskörper nur sehr wenig Zellen vorhanden sind, bei denen es sich zum größten Teil um Lymphozyten und Detritus handelt. Auch bei geringgradig diffuser Glaskörpertrübung waren weder Plasmazellen noch Makrophagen vorhanden, während der Anteil der Lymphozyten auf 80% und der des Detritus auf 72% anstieg. Zur mittelgradig diffusen Glaskörpertrübung hin, sank der Anteil der Lymphozyten leicht ab, der des Detritus blieb konstant. Der Anteil der Makrophagen stieg deutlich an (23%) und der Anteil der Plasmazellen stieg leicht an (3%). Zur hochgradigen Glaskörpertrübung hin sinkt der Anteil des Detritus stark ab auf 25%, die Lymphozyten sinken leicht auf 62%. Die Plasmazellen und die Makrophagen dagegen steigen deutlich an auf 7,5%, bzw. 22,5%. Somit bleibt festzuhalten, dass der Großteil der Zellen Lymphozyten sind, gefolgt von Makrophagen und Plasmazellen. Die meisten Plasmazellen konnten bei geringgradiger Glaskörpertrübung beobachtet werden, die meisten Makrophagen dagegen bei hochgradiger Glaskörpertrübung (s. Abb. 4.23).



**Abb. 4.23:** Zellbild in Abhängigkeit von der diffusen Glaskörpertrübung (Zytozentrifugation)

In der zytologischen Untersuchung konnten in der Gruppe der Patienten ohne Einlagerungen im Glaskörper keine Zellen beobachtet werden. Man muss jedoch bedenken, dass in dieser Gruppe nur ein Auge untersucht werden konnte, bei dem keinerlei Zellen im Glaskörper gefunden werden konnten. In der Gruppe geringgradige Einlagerungen im Glaskörper konnten vier Proben ausgewertet werden, bei allen waren ausschließlich Lymphozyten zu finden. Der Anteil an Detritus betrug in dieser Gruppe durchschnittlich 68%. Bei mittelgradigen Einlagerungen sank der Wert leicht ab (62%), bei hochgradigen Einlagerungen betrug er nur noch 30%. Der Anteil der Lymphozyten sank auf einen Wert von 67% bei mittelgradigen Einlagerungen ab und stieg dann wieder auf 75% bei hochgradigen Einlagerungen an. Die Anteile von Plasmazellen und an der Gesamt-Zellzahl veränderten sich äquivalent zu den Ergebnissen aus der zytologischen Untersuchung bezogen auf den Grad der Glaskörpertrübung.

Somit scheint kaum ein Unterschied im Zellbild zwischen diffusen Trübungen und Einlagerungen von gleichem Schweregrad zu bestehen.

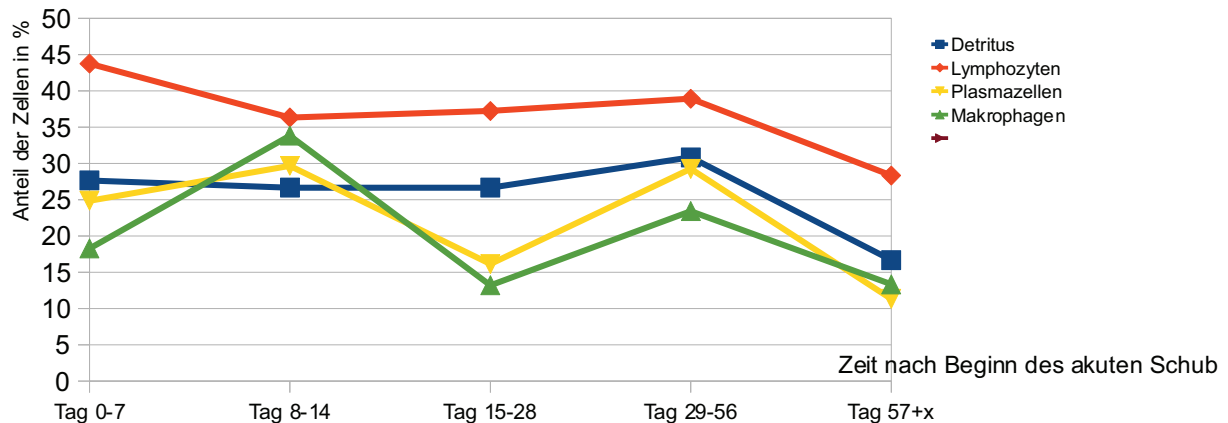


**Abb. 4.24:** Zellbild in Abhängigkeit vom Grad der Einlagerungen im Glaskörper (Zytozentrifugation)

#### 4.1.2.2 Zellbild in Zusammenhang mit dem zeitlichen Verlauf der ERU

##### a) Ergebnisse der histologischen Untersuchung

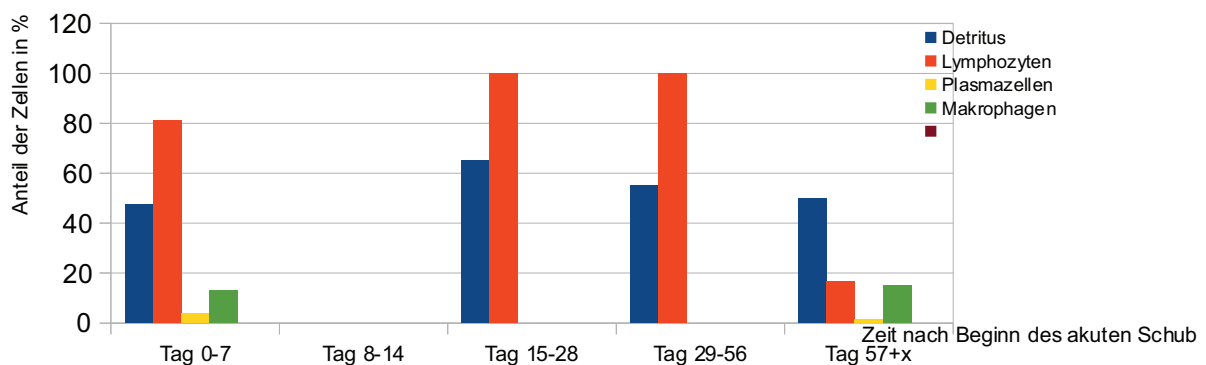
Der Anteil der Lymphozyten betrug im Zeitraum zwischen Tag 1 und Tag 8 nach Beginn des akuten Entzündungsschub 44%, sank dann ab und betrug zwischen Tag 9 und Tag 56 etwa 38%, danach sank er ab auf 28%. Der Anteil des Detritus verhielt sich recht konstant, er lag zwischen Tag 1 und Tag 56 nach Beginn des akuten Schub zwischen 27 und 31%, erst danach sank er deutlich ab auf 17%. Bei Plasmazellen und Makrophagen konnte ein sehr ähnlicher schwankender Verlauf beobachtet werden. Zwischen Tag 1 und Tag 8 betrug der Wert für die Plasmazellen 25% und für die Makrophagen 18%. Die Werte stiegen zwischen Tag 8 und Tag 14 deutlich an auf 30% (Plasmazellen) und 34% (Makrophagen) und sanken dann zwischen Tag 15 und Tag 28 wieder ab auf 16, bzw. 13%. danach stiegen sie im Zeitraum zwischen Tag 29 und Tag 56 wieder an auf 29 und 23% und sanken nach Tag 56 wieder ab auf Werte von 11 und 13%. Im Zeitraum zwischen Tag 8 und Tag 14 sowie nach Tag 56 waren also geringfügig mehr Makrophagen vorhanden, ansonsten waren es geringfügig mehr Plasmazellen.



**Abb 4.25:** Zellbild im zeitlichen Verlauf der ERU (Histologie)

b) Ergebnisse der zytologischen Untersuchung (nach Zytozentrifugation)

Bei der zytologischen Untersuchung dominierten die Lymphozyten das Zellbild. Leider konnte kein Patient im Zeitraum zwischen Tag 8 und Tag 14 nach Beginn des akuten Schubes untersucht werden. Im Zeitraum zwischen Tag 15 und Tag 56 konnten bei insgesamt 4 Patienten nur Lymphozyten festgestellt werden. Danach sank der Wert drastisch ab (2 Patienten untersucht) auf 17%. Gleichzeitig konnten auch andere Zellen beobachtet werden: Der Anteil von Plasmazellen und Makrophagen betrug 15%. Im Zeitraum zwischen Tag 1 und Tag 8 nach Beginn des akuten Schubes erreichten die Lymphozyten einen Wert von 81%, die Plasmazellen einen Wert von 4% und die Makrophagen einen Wert von 13%.



**Abb. 4.26:** Zellbild im zeitlichen Verlauf (Zytozentrifugation)

## 4.2 Ergebnisse in der Gruppe der an Glaukom erkrankten Augen

Bei neun Patienten wurde klinisch und anhand eines akut erhöhten Augeninnendrucks die Diagnose Glaukom gestellt. Drei Proben wurden als blutkontaminiert eingeordnet, sodass sie für die Ergebnisse nicht berücksichtigt wurden. Bei weiteren drei Patienten wurde im umfangreichen Vorbericht von Entzündungsschüben berichtet. Diese Proben werden getrennt betrachtet von den restlichen 6 Proben, bei denen dies nicht der Fall war.

Da bei allen Patienten die Hornhaut diffus milchig getrübt war, konnte der Glaskörper im Rahmen der klinischen Augenuntersuchung nicht beurteilt werden. In der sonographischen Untersuchung zeigte sich in drei Fällen eine Netzhautablösung.

### 4.2.1 Zelldichte und Zellbild

Unter allen Patienten, die an ERU erkrankt waren, konnten bei 19% keine Zellen, bei 36% eine geringgradige Zelldichte, bei 27% eine mittelgradige und bei 17% eine hochgradige Zelldichte nachgewiesen werden (s. Abb. 4.27). Bei den Pferden, die an einem Glaukom litten, konnten nur geringgradige Zelldichte (67%) oder keine Zellen festgestellt werden (s. Abb. 4.28). Nach dem U-Test nach Ratz besteht hier ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen den beiden Gruppen. Beim Vergleich der Gruppe Glaukom ohne Uveitis-Vorbericht und Glaukom mit Uveitis-Vorbericht konnte kein Unterschied hinsichtlich der Verteilung festgestellt werden. In beiden Gruppen wiesen 33% der Patienten keine Zellen und 67% der Patienten geringgradige Zelldichte im Glaskörpermaterial auf. Allerdings war der durchschnittliche Anteil an Plasmazellen und Lymphozyten in der Gruppe Glaukom mit Uveitis-Vorbericht (30%, bzw. 33%) deutlich höher als in der Gruppe Glaukom ohne Uveitis-Vorbericht (9%, bzw. 18%). In der Kontrollgruppe konnte ebenfalls nur geringgradige Zelldichte (30%) oder keine Zellen (70%) im Glaskörpermaterial nachgewiesen werden (s. Abb. 4.29). Im Glaskörper augengesunder Pferde ist somit grundsätzlich die Zelldichte am geringsten.

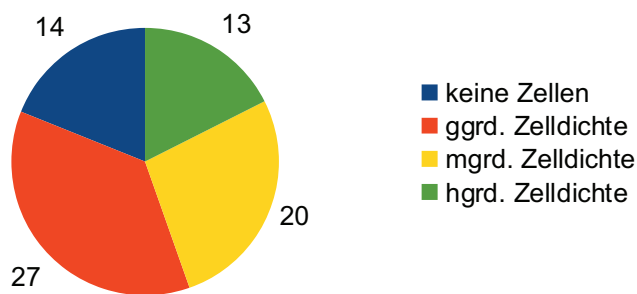
Demnach könnte man vermuten, dass sich ein erhöhter Augeninnendruck (Glaukom), unabhängig vom Vorbericht des jeweiligen Patienten, und somit vermutlich auch unabhängig von der Ursache, auch im Glaskörper manifestiert. Und zwar mit deutlich geringerer Invasion von Entzündungszellen in den Glaskörperraum als im Rahmen einer ERU. Es wäre denkbar, dass der höhere Anteil an Plasmazellen und Lymphozyten bei Patienten mit Uveitis-Vorbericht auf die damaligen entzündlich



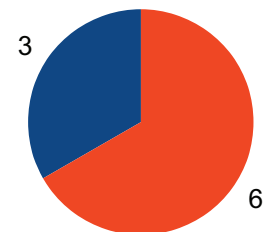
bedingten Veränderungen auf Grund einer Infektion mit Leptospiren im Glaskörper zurück zu führen sind.

**Tab 4.10:** Häufigkeitstabelle für Zelldichte in Bezug auf die Erkrankung (Histologie)

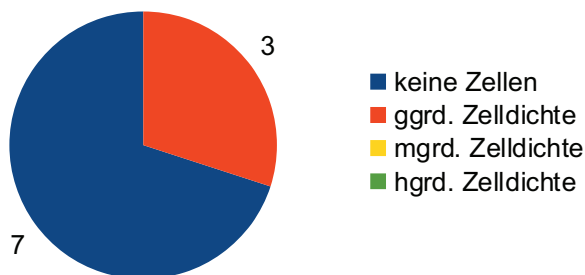
		keine Zellen	ggrd. Zelldichte	mgrd. Zelldichte	hgrd. Zelldichte	Anzahl Tiere
ERU	Anzahl	14	27	20	13	74
	%	18,92	36,49	27,03	17,56	
Glaukom	Anzahl	3	6	0	0	9
	%	33,33	66,67			
Kontrollgruppe	Anzahl	7	3	0	0	10
	%	70	30			



**Abb. 4.27:** Zelldichte im Glaskörper von an ERU erkrankten Augen (n=74)



**Abb. 4.28:** Zelldichte im Glaskörper bei an Glaukom erkrankten Augen (n=9)



**Abb. 4.29:** Zelldichte im Glaskörper bei gesunden Augen (Kontrollgruppe; n=10)

### **4.3 Ergebnisse in der Gruppe „sonstige Uveitis“, die sich klinisch nicht wie eine typische ERU darstellte**

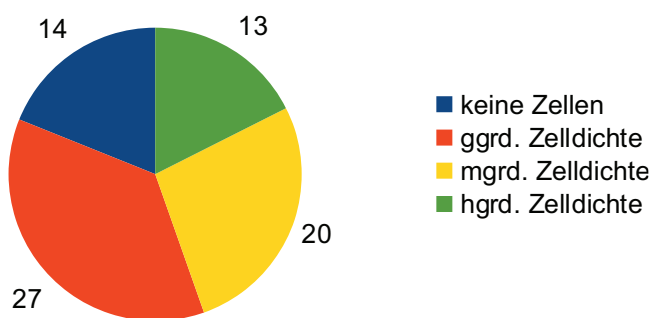
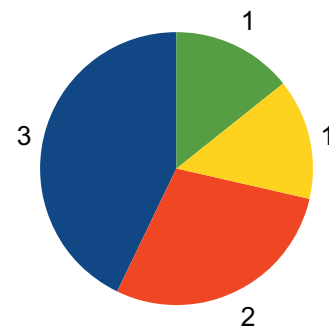
#### **4.3.1 Zelldichte und Zellbild**

Bei den Patienten, die an einer Uveitis erkrankt waren, die sich klinisch nicht wie eine typische ERU darstellte, betrug der Anteil, bei dem keine Zellen (43%) oder nur eine geringgradige Zelldichte (29%) festgestellt werden konnte, 75% (s. Abb. 31). Bei Patienten mit ERU betrug er 55% (s. Abb. 4.30). Man kann die Tendenz erkennen, dass es im Rahmen einer ERU einen größeren Anteil an Patienten mit mittelgradiger und hochgradiger Zelldichte gibt, aber auf Grund der geringen Fallzahlen in der Gruppe der „sonstige Uveitis“-Patienten ( $n = 7$ ) konnte hier kein signifikanter Unterschied ermittelt werden.

Somit könnte man annehmen, dass die Pathomechanismen unterschiedlich sind. Es scheint, als befinden sich im Rahmen einer ERU sowohl in der akuten Phase als auch im Ruhe- und Endstadium mehr Entzündungszellen im Glaskörper als bei Uveitiden, die eine andere Ursache haben und oder bereits klinisch abgrenzbar sind. Es konnte nur bei zwei Pferden eine mittel- bis hochgradige Zelldichte nachgewiesen werden. Im Falle der Knabstrupper-Stute könnte man die hohe Zelldicht damit erklären, dass es sich nach dem Vorbericht um einen chronischen Verlauf einer Uveitis handelt. In der Literatur ist dies insbesondere bei Appaloosas und Kaltblütern unter dem Begriff „*insidious Uveitis*“ (GILGER u. DEEG, 2010) beschrieben. Im anderen Fall handelte es sich um ein akutes schweres Trauma, was zu einer Einblutung in die vordere Augenkammer geführt hatte. Es ist nicht auszuschließen, dass auch in anderen Bereichen des Auges eine traumatisch bedingte Entzündung ablief, die jedoch nicht mit einer Blutung einherging und es so zur Zellinvasion in den Glaskörperaum kam.

**Tab 4.11:** Häufigkeitstabelle für Zelldichte in Bezug auf die Erkrankung (Histologie)

		keine Zellen	ggrd. Zelldichte	mgrd. Zelldichte	hgrd. Zelldichte	Anzahl Tiere
ERU	Anzahl	14	27	20	13	74
	%	18,92	36,49	27,03	17,56	
Glaukom	Anzahl	3	6	0	0	9
	%	33,33	66,67			
Uveitis	Anzahl	3	2	1	1	7
	%	42,86	28,57	14,2	14,2	
Kontrollgruppe	Anzahl	7	3	0	0	10
	%	70	30			

**Abb. 4.30:** Zelldichte im Glaskörper bei an ERU erkrankten Augen (n=74)**Abb. 4.31:** Zelldichte im Glaskörper bei an „sonstiger Uveitis“ erkrankten Augen (n=7)

#### 4.3.2 Zellbild der einzelnen Patienten

Da die Fälle klinisch sehr unterschiedlich waren, werden sie im Folgenden einzeln dargestellt.

Bei der 5-jährigen Bayerischen Warmblut Fuchs-Stute mit der Kerato-Uveitis konnten keine Zellen im Glaskörper nachgewiesen werden. Die Stute zeigte hochgradigen Blepharospasmus, Epiphora, massive Neovaskularisation der Kornea, die diffus rauchig getrübt war. Weiterhin konnten eine Miosis, Irisresiduen und eine bläschenförmige Linsentrübung festgestellt werden, der Glaskörper

erschien in der ultrasonographischen Untersuchung klar.

Bei der 13-jährigen Knabstrupper-Stute, die seit Fohlenalter mit Blepharospasmus aufgefallen war, konnten ein geringgradiger Blepharospasmus, eine Trübung der Kornea, eine Miosis, eine hintere Synechie und mittelgradige Einlagerungen im verflüssigten Glaskörper beobachtet werden. In der Histologie war mittelgradig viel Zellmaterial zu sehen, wovon 80% als Detritus eingeordnet wurde, der Rest bestand zu 100% aus Lymphozyten.

Die 18-jährige Appaloosa-Stute war bereits wegen eines Glaukoms erfolgreich konservativ drucksenkend vorbehandelt worden, bevor sie mit einer traumatisch bedingten Ruptur der Linsenkapsel und folgender phakogener Uveitis in der Klinik vorgestellt wurde. Bei der Untersuchung konnte festgestellt werden, dass die Stute bereits erblindet war. Sie zeigte hochgradigen Blepharospasmus und Epiphora, eine Miosis, eine milchig getrübe Kornea mit einem Hornhaut-Ulkus. In der Histologie konnten keine Zellen gefunden werden.

Bei der 7-jährigen braunen Warmblut-Stute bestand auf Grund eines Hyphämas in der vorderen Augenkammer der Verdacht auf eine traumatische Uveitis. Sie zeigte mittelgradigen Blepharospasmus, eine rauchig getrübe Kornea mit zirkulärer Neovaskularisation und eine Miosis. Der Glaskörper erschien mittelgradig diffus getrübt mit mittelgradigen Einlagerungen. In der histologischen Untersuchung wurden eine hochgradige Zelldichte festgestellt, der Anteil an Detritus betrug 50%. Die auswertbaren Zellen setzten sich zusammen aus 20% Lymphozyten, 10% Plasmazellen und 70% Makrophagen.

Der 10-jährige braune Warmblut-Wallach, bei dem von einem Trauma vor etwa neun Monaten berichtet worden war, zeigte bei Vorstellung in der Klinik Auflagerungen auf der Linsenrückfläche, eine mittelgradige Glaskörpertrübung mit Einlagerungen. In der Histologie waren nur ganz geringgradig Zellen zu finden. Es handelte sich um vereinzelte Lymphozyten neben einem größeren Teil (90%) Detritus.

Bei einem 12-jährigen braunen Warmblut-Wallach konnten geringgradige Anzeichen einer abgelaufenen Uveitis erkannt werden. Zum Zeitpunkt der Untersuchung war das Auge reizfrei, es wurde nicht von Entzündungsschüben berichtet. Es bestanden eine bläschenförmige Trübung der Linsenrückfläche, eine abgegrenzte Hornhauttrübung (Durchmesser etwa 1 cm) und geringgradige Einlagerungen im Glaskörper. Im Glaskörper waren jedoch keinerlei Zellen nachweisbar.

Der letzte Patient, ein 6-jähriger brauner Oldenburger-Wallach, war durch einen Sturz beim Springen aufgefallen. Bei der Untersuchung konnte festgestellt werden, dass er bereits erblindet war. Zusätzlich war ein stahlblauer Fundusreflex zu sehen und fadenförmige Einlagerungen im Glaskörper. Sonst war das Auge reizfrei und unauffällig. In der Histologie waren lediglich vereinzelte degenerierte Zellen zu finden.

#### 4.4 Ergebnisse der Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe bestand aus 13 Augen von 7 Pferden, bei denen in der klinischen Augenuntersuchung keine besonderen Befunde erhoben werden konnten. Bei drei Proben wurde bei der Beurteilung eine Blutkontamination festgestellt, sodass sie bei der Bewertung der Ergebnisse nicht berücksichtigt wurden.

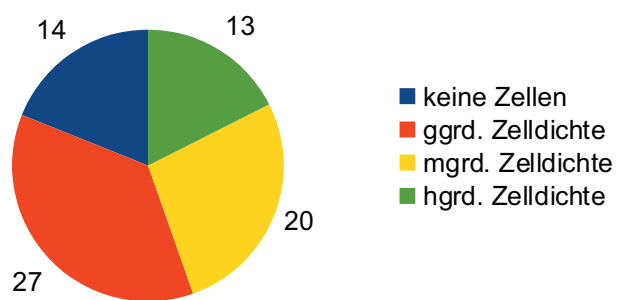
##### 4.4.1 Zelldichte und Zellbild

Es ist deutlich erkennbar, dass bei der Kontrollgruppe weder eine mittelgradige noch eine hochgradige Zelldichte nachgewiesen werden konnte. Bei den ERU-Patienten wiesen hingegen 44,59% derartige Veränderungen auf (s. Abb. 4.32). Beim größten Teil (70%) der gesunden Pferde konnten keine Zellen im Glaskörpermaterial nachgewiesen werden. Lediglich bei 30% wurde eine geringgradige Zelldichte festgestellt (s. Abb. 4.33). Mit dem U-Test nach Ratz konnte hier ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,001$ ) dargestellt werden.

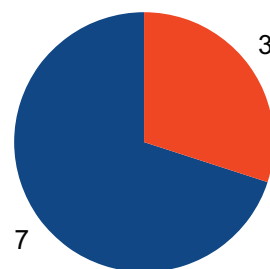
Auch bezüglich des Zellbildes konnten deutliche Unterschiede im Vergleich zu den ERU-Patienten beobachtet werden: Es kamen nur vereinzelt intakte Zellen vor, bei denen es sich um Lymphozyten handelte. Des Weiteren wurden in geringer Anzahl degenerierte Zellen gefunden. Es waren weder Plasmazellen noch Makrophagen vorhanden.

**Tab 4.12:** Häufigkeitstabelle für Zelldichte in Bezug auf die Erkrankung (Histologie)

		keine Zellen	ggrd. Zelldichte	mgrd. Zelldichte	hgrd. Zelldichte	Anzahl Tiere
ERU	Anzahl	14	27	20	13	74
	%	18,92	36,49	27,03	17,56	
Glaukom	Anzahl	3	6	0	0	9
	%	33,33	66,67			
Uveitis	Anzahl	3	2	1	1	7
	%	42,86	28,57	14,2	14,2	
Kontrollgruppe	Anzahl	7	3	0	0	10
	%	70	30			



**Abb. 4.32:** Zelldichte im Glaskörper bei an ERU erkrankten Augen (n=74)



**Abb. 4.33:** Zelldichte im Glaskörper bei gesunden Augen (n=10)

## 5 Diskussion

### 5.1 Befunde bei augengesunden Pferden

Im Glaskörpermaterial von Pferden, bei denen die klinische Augenuntersuchung keinen besonderen Befund ergab, konnte maximal eine geringgradige Zelldichte nachgewiesen werden. Bei dem in geringen Mengen vorhandenen Zellmaterial handelte es sich um vereinzelte Lymphozyten und einen etwas größeren Anteil an degenerierten Zellen (Detritus). Es konnten keine Makrophagen oder Hyalozyten beobachtet werden. Dies hängt mit der Probenentnahme zusammen: Es wurde wie zu Beginn der therapeutischen Vitrektomie bei an ERU erkrankten Augen die für die Untersuchung verwendete unverdünnte Probe entnommen. Die Hyalozyten befinden sich laut Literatur jedoch in der Peripherie des Glaskörpers, einer Schicht, die nur etwa 20 bis 50 µm von den umliegenden Strukturen entfernt ist. Die vereinzelt vorhandenen Lymphozyten könnten die bereits im Literaturteil erwähnte Theorie der Glaskörper- assoziierten abweichenden Immunantwort (*vitreous chamber associated immunodeviation*) unterstützen.

In 75% der Fälle konnten gar keine Zellen nachgewiesen werden. Diese Beobachtungen stimmen mit der Literatur überein: 2006 untersuchte NIEDERMAIER erstmals elektronenmikroskopisch den Glaskörper von Pferden und konnte bei augengesunden Pferden nur Detritus finden. Sie schlussfolgert, dass der Zelluntergang ein physiologischer Prozess im Glaskörperraum ist. DEEG et al. (2001) fanden in Glaskörperproben von gesunden Pferden ebenfalls keine Entzündungszellen. Allerdings handelte es sich um verdünnte Glaskörperproben, die vor der Untersuchung filtriert wurden. Es wurde aber nicht das vom Filter zurückgehaltene Material untersucht, sondern nur der Teil der Probe, der den Filter passieren konnte.



## 5.2 Befunde bei an ERU erkrankten Pferden

Um sowohl die flüssigen Anteile des Glaskörpers als auch die wolkigen Einlagerungen untersuchen zu können, mussten diese getrennt bearbeitet werden. So wurde zusätzlich zur Einbettung der Einlagerungen (s. a. NIEDERMAIER, 2002) eine Zytozentrifugation des flüssigen Materials ausgeführt.

Die Proben unterschieden sich zum großen Teil schon makroskopisch von den Proben der augengesunden Pferde: Neben einer geringeren Anzahl an Proben, die wie die der Kontrollgruppe makroskopisch klar und unauffällig waren, wiesen sie eine gering- bis hochgradige diffuse Trübung, bzw. Gelb-Färbung auf mit gering- bis hochgradigen fädigen bis wolkigen Einlagerungen darin.

Bei der histologischen Untersuchung dieser Einlagerungen konnte festgestellt werden, dass es sich hierbei um Konglomerate aus dicht aneinander liegenden Kollagenfibrillen, Entzündungszellen und amorphem Material handelte. Dieses amorphe Material besteht vermutlich aus Amyloid (GIVING, Dissertation in Vorbereitung). Im Vergleich mit augengesunden Kontrollen lagen die Kollagenfibrillen deutlich dichter sowohl in Bündeln als auch in netzartiger Anordnung vor. Die Entzündungszellen befanden sich zwischen den einzelnen Fibrillen und am Rand der Konglomerate. In seltenen Fällen kamen sie auch weit außerhalb der Konglomerate vor. Dies ist eine Folge der Probenbehandlung vor dem Einbetten, bei der das Material filtriert wurde, um das flüssige Fixans zu entfernen. Bei den Zellen handelte es sich um Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen, wobei die Lymphozyten die dominierende Zellpopulation darstellten. Neben dieser entzündlichen Infiltration des Glaskörpers konnte immer auch ein mehr oder weniger großer Teil an nekrotischem Zellmaterial, Detritus, beobachtet werden. NIEDERMAIER (2006) berichtete von vergleichbaren Beobachtungen: Sie fand im Glaskörper von an ERU erkrankten Pferden ebenfalls verschiedene mononukleäre Entzündungszellen und verdichtete Glaskörperfibrillen vor.

DEEG et al. (2001) untersuchten ebenfalls Glaskörpermaterial von an ERU erkrankten Pferden. Die Proben wurden ebenso in der Chirurgischen Abteilung der Klinik für Pferde der LMU München im Rahmen einer therapeutischen Vitrektomie gewonnen\*. Die stark verdünnten Glaskörperproben wurden filtriert, zentrifugiert und mittels Durchflusszytometrie analysiert. Das vom Filter zurückgehaltene Material wurde verworfen. Somit ist ein Vergleich der Ergebnisse von DEEG et al. (2001) mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit nur bedingt möglich: es können nur die

---

\* Anmerkung: Die Pferde erhielten eine identische lokale und systemische antiphlogistische Vorbehandlung

Ergebnisse aus der Zytozentrifugation (flüssige Anteile des Glaskörpers) dazu herangezogen werden. Es besteht in sofern eine Übereinstimmung, als dass Lymphozyten das Zellbild dominierten. DEEG et al. (2001) unterschieden drei Gruppen mit unterschiedlicher Zusammensetzung von Lymphozyten und Granulozyten. Des Weiteren differenzierten sie die Lymphozyten in CD4+-Lymphozyten, CD8+-Lymphozyten und B-Zellen und ermittelten eine durchschnittliche Gesamt-Zellzahl von  $6,4 \times 10^6$  pro Probe mit einer starken Schwankung von  $\pm 2,4 \times 10^6$ . Die Einteilung der Gruppen wurde schließlich ausschließlich auf Grund des untersuchten Zellbildes getroffen ohne das klinische Bild zu berücksichtigen. Des weiteren ist die Zellzahl kritisch zu beurteilen, da es sich einerseits um 10-fach verdünnte Proben handelte und andererseits ein Teil an unverdünnte Glaskörperproben vorher abgenommen worden waren zur Untersuchung mittels MAR, ELISA und PCR.

In vorliegenden Arbeit lag der Fokus darauf, die Befunde, die bei der klinischen Augenuntersuchung erhoben worden waren, mit der Zelldichte und dem Zellbild zu korrelieren. Zudem sollte das Krankheitsstadium berücksichtigt werden.

Es konnte festgestellt werden, dass bei Patienten mit gering- und mittelgradigen Veränderungen des Glaskörpers kaum Unterschiede in der Zelldichte bestehen. Bei 25% der Patienten, bei denen klinisch keine diffuse Glaskörpertrübung zu erkennen war, wurde eine mittelgradige Zelldichte festgestellt. Bei Patienten ohne Einlagerungen im Glaskörper war dies nur bei 7% der Fall. In Folge dessen findet man im Rahmen einer ERU auch dann in geringer Menge Entzündungszellen diffus im Glaskörper verteilt, wenn dieser in der klinischen Augenuntersuchung noch klar und unauffällig erscheint. 63% der Patienten mit klinisch hochgradig diffuser Glaskörpertrübung wiesen eine hochgradige Zelldichte auf. Unter den Patienten mit hochgradigen Einlagerungen im Glaskörper war dies bei 45% der Fall. Demnach verteilen sich mehr Entzündungszellen diffus im Glaskörperraum, als sich in den Einlagerungen befinden. In der zytologischen Untersuchung bestätigten sich diese Befunde: Bei den Patienten ohne Einlagerungen im Glaskörper konnten keine Zellen nachgewiesen werden. Bei den Patienten ohne diffuse Glaskörpertrübung konnte in 60% der Fälle eine geringgradige Zelldichte festgestellt werden. In allen Fällen handelte es sich ausschließlich um Lymphozyten. Auch in der histologischen Untersuchung stellen die Lymphozyten in den meisten Fällen durchschnittlich die größte Zellpopulation dar. Mit steigendem Grad der Glaskörpertrübung und dem Grad der Einlagerungen stieg auch der Anteil der Lymphozyten und Plasmazellen an. Von mittelgradigen zu hochgradigen Einlagerungen sanken Lymphozyten und Plasmazellen leicht ab, die Makrophagen dagegen stiegen deutlich an und erreichten ähnlich hohe

Werte wie die Lymphozyten. Bei hochgradigen Einlagerungen dominieren somit Lymphozyten und Makrophagen als Ausdruck eines chronischen Entzündungsgeschehens (s. Abb. 4.22).

Neben den intakten und eindeutig klassifizierbaren Zellen (Lymphozyten, Makrophagen, Plasmazellen) konnten große Mengen an degenerierten Zellen (Detritus) gefunden werden. Da das Probenmaterial nach der Entnahme zügig (innerhalb von 15 Minuten) bearbeitet wurde, ist davon auszugehen, dass die Degeneration der Zellen bereits *in vivo* stattgefunden hat. Bei der Zuordnung der Herkunft ließen sich neben den oben genannten Zelltypen vereinzelt stark degenerierte neutrophile Granulozyten finden. Im Rahmen des Entzündungsgeschehens, das sich in der Uvea abspielt und zu einer veränderten Gefäßpermeabilität führt, wandern die Entzündungszellen in den Glaskörper ein (BRANDES, 2007). Neutrophile Granulozyten werden zuerst rekrutiert und dann schnell von Lymphozyten ersetzt (GILGER u. DEEG, 2011). Da die neutrophilen Granulozyten eine Lebenszeit von nur 1 bis 4 Tagen im Gewebe aufweisen (ACKERMANN, 2009) und die Proben frühestens am fünften Tag nach Beginn des akuten Schubs entnommen wurden, ist die Abwesenheit von intakten neutrophilen Granulozyten und das Vorliegen in geringen Mengen in degenerierter Form ein zu erwartender Befund. Neutrophile Granulozyten sind primär darauf ausgerichtet, Fremdmaterial sowie Mikroorganismen, wie Bakterien, Pilze oder Viren, abzutöten (ACKERMANN, 2009). Ihre ehemalige Anwesenheit spricht somit für eine infektiöse Ursache der ERU. Um eine sichere Aussage über Menge und die Dynamik der verschiedenen Zelltypen sowie eine genauere Differenzierung des Detritus im Glaskörper von an ERU erkrankten Pferden treffen zu können, wäre an eine weiterführende immunhistochemische Untersuchung zu denken.

Bei Betrachtung der Zelldichte im zeitlichen Verlauf nach Beginn des akuten Schubes konnte festgestellt werden, dass das Maximum der Zelldichte im Zeitraum zwischen Tag 8 und Tag 14 erreicht wurde. Von neun Patienten befanden sich drei Pferde noch im akuten Entzündungsschub, bei sechs Pferden konnten außer Glaskörpertrübung und Einlagerungen keine akuten Anzeichen eines Entzündungsschubes beobachtet werden. Dies lässt vermuten, dass die Veränderungen im Glaskörper zeitversetzt nach dem hochakuten, schmerzhaften Entzündungsgeschehen im Bereich der Uvea einsetzen. Nach diesem Zeitraum nimmt die Zelldichte stetig ab, erreicht aber nicht den Wert der augengesunden Pferde. Selbst acht Wochen nach Beginn des akuten Schubes konnte noch bei 67% der Pferde eine gering- bis mittelgradige Zelldichte festgestellt werden. Bei den augengesunden Pferden in der Kontrollgruppe konnte nur bei 30% eine geringgradige Zelldichte beobachtet werden, bei den restlichen 70% waren keine Zellen zu finden. Diese Befunde können dahingehend interpretiert werden, dass die ERU dauerhaft ein subakutes Entzündungsgeschehen

unterhält. Es wäre denkbar, dass das Geschehen nun von T-Suppressor-Zellen kontrolliert wird, was klinisch als Ruhephase interpretiert wird, obwohl immer noch Immunreaktionen ablaufen. Der Anteil an Detritus bleibt bis Tag 56 recht konstant und sinkt dann auf etwa die Hälfte, was als Übergang vom subakuten Entzündungsgeschehen zu dauerhaften, nicht reversiblen Veränderungen angesehen werden kann.

GILGER et al. (1998) untersuchten histopathologisch Augen von Pferden, die an einer chronischen ERU erkrankt waren. Auf Grund der entzündlichen Infiltration von Iris und Ziliarkörper sowie den vorhandenen Zytokinen ging er von einer Th1-Antwort (T-Helfer-1-Zellen) aus. Diese Th1-Zellen wirken pro-inflammatorisch, steigern die Effizienz der phagozytierenden Zellen und der zytotoxischen Zellen. Sie reagieren auf intrazelluläre Antigene wie Viren oder phagozytierte Bakterien. Die Autoren konnten einen solchen Auslöser der Reaktion nicht finden und gingen von einer immunmedierten Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ gegenüber Autoantigenen der Uvea aus. Da in der vorliegenden Untersuchung vergleichbare Anteile an Lymphozyten beobachtet werden konnten und die nachgewiesenen Leptospiren-Antigene, bzw. -Antikörper die Rolle des Agens einnehmen können, kann es sich um ein infektions-assoziiertes immunologisches Geschehen handeln. Dies wird bestätigt von HEWICKER-TRAUTWEIN u. BEINEKE (2011), die davon ausgehen, dass die Autoimmunreaktionen durch molekulares Mimikry in Folge einer intraokularen Leptospiren-Infektion ausgelöst wird. Dafür spricht auch die Tatsache, dass nach einer Vitrektomie, mit der sowohl Leptospiren als auch Entzündungsprodukte entfernt werden, keine Schübe mehr auftreten (WOLLANKE, 2002; GERHARDS u. WOLLANKE, 2005; WOLLANKE u. GERHARDS, 2009).

Die von DEEG (2008) beschriebenen Autoimmunreaktionen gegen Antigene in der Retina sind somit mit hoher Wahrscheinlichkeit durch Mechanismen wie „molekular mimikry“, „bystander activation“ oder „epitope spreading“ als Folge der intraokularen Leptospiren-Infektion bedingt (HEWICKER-TRAUTWEIN u. BEINEKE, 2011) und sind als infektions-assoziiert ablaufende Reaktionen zu betrachten (WOLLANKE, 2002).

KALSOW und DWYER (1998) untersuchten die Retina von an ERU erkrankten Pferden und von Ponys, die experimentell mit Leptospiren infiziert worden waren. Sie fanden in den Präparaten der Retina mit dem Grad der Retinaschädigung einhergehend eine Infiltration mit T- und geringgradig B-Lymphozyten und eine gesteigerte MHC Klasse II-Expression sowohl bei den ERU-Patienten als auch bei den experimentell infizierten Ponys. Diese Autoren gehen von einem postinfektiösen immunologischen Geschehen aus. Diese These wird unterstützt durch folgende Befunde der vorliegenden Untersuchung: alle an ERU erkrankten Pferde wiesen einen hohen Anteil an

Lymphozyten und entweder einen positiven Antikörpertiter gegen Leptospiren im Glaskörper oder mittels PCR ermitteltes Leptospiren – Antigen im Glaskörper auf (Die Ergebnisse wurden in der Arbeit nicht detailliert dargestellt).

Unabhängig vom Grad der Glaskörpertrübung und den Einlagerungen war der Anteil der Lymphozyten nach der Zytozentrifugation (zytologische Untersuchung) signifikant höher als in der histologischen Untersuchung, wohingegen der Anteil der Makrophagen und Plasmazellen in der histologischen Untersuchung signifikant höher war als nach der Zytozentrifugation. Es befinden sich somit mehr Lymphozyten diffus verteilt in den flüssigen Teilen des Glaskörpers als in den Einlagerungen. Gleichzeitig ist der größere Teil der Plasmazellen und Makrophagen in den Einlagerungen zu finden. Makrophagen finden sie sich vor allem im Bereich von persistierenden Antigenen oder Mikroorganismen und dienen der Antigenpräsentation und Phagozytose (BAUMGÄRTNER u. SCHMIDT, 2011). Somit liegt die Vermutung nahe, dass sich die Leptospiren in den Einlagerungen im Glaskörper befinden und die ebenfalls vermehrt dort ansässigen Plasmazellen zur Immunreaktion anregen. In diesem Zusammenhang kann auch das Vorhandensein von Amyloid in den Einlagerungen (GIVING; Diss. in Vorbereitung) gesehen werden. Obwohl das Amyloid zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht typisiert ist, könnte es sich um Serum-Amyloid-A handeln, was beim Pferd als Hauptprotein der Akute-Phase-Proteine im Rahmen einer akuten Entzündung beschrieben wird (BAUMGÄRTNER u. SCHMIDT, 2011).

Es wäre aufschlussreich, Glaskörperproben möglichst zeitnah nach dem ersten Schub einer ERU zu entnehmen und zu untersuchen, ob es einen Unterschied in der Entzündungsreaktion zwischen dem ersten und den weiteren Schüben gibt. Es ist denkbar, dass der erste Schub durch die Leptospiren ausgelöst wird und die weiteren durch infektions-assoziierte immunologische Reaktionen.

Auf Grund der Pathogenese kann man die Equine rezidivierende Uveitis mit infektiösen, nicht-eitrigen (fibrinösen) Arthritiden vergleichen (WOLLANKE, 2002). In beiden Fällen wird durch die Erreger (Bakterien oder Viren) eine lymphoplasmazelluläre Entzündung verursacht, die eine massive Schädigung des umliegenden Gewebes zur Folge hat. Bei rheumatoiden Arthritiden werden auf einen bisher unbekannten Stimulus hin Autoantikörper gegen Immunglobulin (Ig) G und IgM synthetisiert. Es konnte gezeigt werden, dass Kreuzreaktionen zwischen persistierenden Zellwandbestandteilen und physiologischen Proteoglykanen eine Rolle spielen bei der immunologischen Reaktion. Dies könnte man mit dem „molekular mimikry“ vergleichen. Bisher konnte jedoch noch kein Erreger der rheumatoiden Arthritis identifiziert werden. Neutrophile Granulozyten nehmen die Immunkomplexe auf und setzen lysosomale Enzyme frei, was zu einer

Aufrechterhaltung der Entzündungsreaktion im Gelenk und zur Schädigung der Gelenkstrukturen führt. Es besteht wie bei der ERU ein schubweiser Verlauf (WEISBRODE, 2009). Die Therapie besteht aus der systemischen Gabe von steroidal und nicht-steroidal Antiphlogistika und Chondroprotektiva. Auf Grund der Autoantikörper gegen IgG und IgM entstehen Immunkomplexe, die sich in der Synovialmembran, oft in mehreren Gelenken, ablagern und dann dort die gewebsschädigende Entzündungsreaktion auslösen und unterhalten (Taylor, 2006). Bei der ERU ist mit den Leptospiren ein auslösendes Agens identifiziert. In Versuchen von DEEG et al. (2002; 2006) konnten nach Verabreichen von Autoantigenen vor allem einmalige Uveitiden beobachtet werden. Da zudem nach einer Vitrektomie die Entzündungsschübe sistieren, kann bei der ERU nicht von einer primär autoimmunen Pathogenese ausgegangen werden, wie es bei der rheumatoiden Arthritis derzeit der Fall ist.

### **5.3 Befunde bei an Glaukom oder „sonstiger Uveitis“ erkrankten Pferden**

Bei den an Glaukom erkrankten Patienten konnte maximal eine geringgradige Zelldichte ermittelt werden; 30% der Pferde wiesen gar keine Zellen im Glaskörpermaterial auf. Somit besteht ein deutlicher Unterschied zur Zelldichte bei an ERU erkrankten Pferden, bei denen in 44,59% der Fälle eine mittel- oder hochgradige Zelldichte festgestellt werden konnte. Bei den augengesunden Pferden in der Kontrollgruppe konnte ebenfalls maximal eine geringgradige Zelldichte nachgewiesen werden. 70% der Pferde wiesen gar keine Zellen im Glaskörper auf. Somit liegt der Schluss nahe, dass sich ein Glaukom im Gegensatz zu einer ERU kaum im Glaskörper manifestiert. Bei den Glaukom-Patienten mit Uveitis-Vorbericht sind deutlich mehr Lymphozyten und Plasmazellen und weniger Makrophagen vorhanden als bei den Glaukom-Patienten ohne solchen Vorbericht. Diese Veränderungen sind mit der vorangegangenen Uveitis zu erklären.

Auch bei den Patienten, die an einer Uveitis erkrankt waren, die sich klinisch nicht wie eine typische ERU darstellte, war die Zelldichte deutlich geringer als bei den ERU-Patienten in vergleichbaren Stadien. Dieses Ergebnis bestätigt die bereits in der Literatur (GILGER u. DEEG, 2010) beschriebene Tatsache, dass nicht jede Uveitis eine ERU darstellt. In der vorliegenden Untersuchung wird deutlich, dass sich eine Uveitis, die klinisch nicht wie eine typische ERU aussieht, sich auch deutlich weniger im Glaskörper manifestiert. In 75% der Fälle konnten entweder nur geringgradige oder gar keine Zellen nachgewiesen werden.

Die Summe der Beobachtungen legt den Schluss nahe, dass sich eine klassische ERU anders auf den Glaskörper auswirkt als eine Keratitis mit begleitender Uveitis (Kerato-Uveitis) sowie eine traumatisch bedingte oder phakogene Uveitis. Bei einer ERU kommt zu massiven Veränderungen im Glaskörper im Sinne einer Zellinvasion, woraus eine Glaskörpertrübung und Einlagerungen im Glaskörper resultieren. Bei Uveitiden anderer Ätiologie ist dies nicht der Fall.

#### **5.4 Ausblick**

Man muss bedenken, dass die vorliegende Arbeit auf semiquantitativ ermittelten Ergebnissen beruht und nur einen stichprobenartigen Einblick in den Glaskörperraum erlaubt.

Um das Zellbild im Glaskörper bei an ERU erkrankten Pferden weiter zu charakterisieren, könnte man mit immunhistochemischen Färbemethoden arbeiten. Dann können unter Umständen auch degenerierte Zellen zugeordnet werden. Es wäre ebenso aufschlussreich, mittels Durchflusszytometrie mit Hilfe von Lymphozyten-spezifischen Antikörpern die Subpopulationen der Lymphozyten zu klassifizieren, um zu wissen, in welchem Stadium der ERU T- oder B-Zellen vorherrschen, welches Stadium der ERU von Suppressor-T-Zellen, von zytotoxischen T-Zellen, T-Helfer-Zellen oder von regulatorischen T-Zellen dominiert wird. Auch die Unterscheidung zwischen CD 4+ - und CD 8+ - T-Lymphozyten wäre möglich. Um die Entzündungsreaktion genau zu charakterisieren, sollten die im Glaskörper vorhandenen Zytokine bestimmt werden. Die Korrelation mit den klinischen Befunden ist unerlässlich, um den Verlauf des Geschehens auf zellulärer Ebene zuzuordnen. Um gleichzeitig die flüssigen Anteile des Glaskörpers und die wolkigen Einlagerungen zu untersuchen, könnten eventuell Kryoschnitte vom Glaskörper angefertigt werden. Man muss jedoch bedenken, dass dafür die Augen enukleiert werden müssten, um die nativen Verhältnisse nicht zu verfälschen. Die Rekrutierung der Probanden wird sich voraussichtlich sehr schwierig gestalten, da mit der Vitrektomie bereits ein erprobtes und erfolgreiches Verfahren zur Therapie der ERU zur Verfügung steht.



## 6 Zusammenfassung

Während eine intraokular persistierende Leptospireninfektion als Ätiologie der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU), soweit es sich um die typische klinische Form dieser Erkrankung handelt, bereits als gesichert gilt, sind die Pathomechanismen zwischen und während den Entzündungsschüben noch weitgehend ungeklärt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, sowohl von Pferden, bei denen Glaskörperveränderungen erkennbar waren, als auch von klinisch augengesunden Pferden Glaskörperproben aufzubereiten um Informationen über Zellgehalt und Zellzusammensetzung zu erhalten. Dazu wurden 100 im Rahmen von Vitrektomien gewonnene Glaskörperproben untersucht. 74 dieser Proben stammten von Pferden, bei denen anhand der klinischen Augenuntersuchung eindeutig die Diagnose ERU gestellt werden konnte. Neun Proben stammten von Pferden, die an einem Glaukom litten und sieben Proben stammten von Pferden, die an einer Uveitis erkrankt waren, die sich nicht wie eine typische ERU darstellte („sonstige Uveitis“). Zur Kontrolle wurden 10 Glaskörperproben von augengesunden Pferden untersucht.

Das Glaskörpermaterial wurde für die histologische Untersuchung unter besonderer Berücksichtigung der darin enthaltenen fädigen bis wolkigen Einlagerungen in Formalin fixiert und später in Paraffinblöcken eingebettet. Für die zytologische Untersuchung, die zusätzlich zur histologischen Untersuchung bei 13 Proben durchgeführt wurde, wurde das Probenmaterial nach Entfernen der Einlagerungen zytozentrifugiert. Die Beurteilung erfolgte jeweils unter dem Lichtmikroskop. Zelldichte und Zellzusammensetzung wurden in Beziehung gesetzt zum Grad der Glaskörpertrübung, dem Grad der Einlagerungen im Glaskörper und dem Abstand zum Beginn des letzten akuten Entzündungsschubes.

Die Zelldichte im Glaskörper lag bei den an ERU erkrankten Pferden signifikant höher als bei der Kontrollgruppe ( $p < 0,001$ ). Pferde, die an Glaukom oder „sonstiger Uveitis“ erkrankt waren, zeigten eine deutlich geringere Zelldichte als ERU-Patienten. Mit steigender Glaskörpertrübung und steigenden Einlagerungen im Glaskörper stieg auch der Anteil der Patienten mit mittel- und hochgradiger Zelldichte deutlich an. Das Gesamt-Zellbild der intakten Zellen setzte sich zusammen aus Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen und vereinzelt neutrophilen Granulozyten.

Daneben konnten große Mengen an degeneriertem Zellmaterial beobachtet werden. Bei Patienten mit hochgradigen Einlagerungen im Glaskörper dominierten Lymphozyten und Makrophagen das Zellbild.

Es gab signifikante Unterschiede in der Verteilung der Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen. Lymphozyten befinden sich größtenteils in den flüssigen Anteilen des Glaskörpers ( $p < 0,006$ ), während die Plasmazellen und Makrophagen vermehrt in den Einlagerungen zu finden waren ( $p < 0,001$ ). Da bei allen an ERU erkrankten Pferden Antikörper gegen Leptospiren oder Leptospiren-Antigen im Kammerwasser oder im Glaskörper nachgewiesen werden konnte, liegt der Schluss nahe, dass es sich bei der entzündlichen Reaktion im Glaskörper um ein infektionsbegleitendes immunologisches Geschehen handelt.

Das Maximum der Zelldichte lag im Zeitraum zwischen Tag 8 und Tag 14 nach Beginn des akuten Schubes. Nach diesem Zeitraum fiel die Zelldichte wieder ab, blieb aber immer höher als die Zelldichte bei den augengesunden Pferden aus der Kontrollgruppe.

Daraus folgt, dass die klinische Ruhephase keine immunologische Ruhephase darstellt.

Zur weiteren Untersuchung des Pathomechanismus der rezidivierenden Entzündungsschübe käme eine immunhistochemische Untersuchung des Glaskörpermaterials in Frage, um zwischen T- und B-Lymphozyten unterscheiden und um eine Differenzierung der T-Lymphozyten vornehmen zu können. Zusätzlich könnten die im Glaskörper vorkommenden Zytokine bestimmt werden. Diese Befunde sollten erneut mit dem klinischen Bild und dem Verlauf der ERU des Patienten abgeglichen werden.

## 7 Summary

### **Histological studies on the vitreous body of horses with equine recurrent uveitis**

Whereas the etiology of equine recurrent uveitis (ERU), concerning the typical clinical form of the disease, was found to be a persistent intraocular leptospiral infection, the pathomechanisms during and between the recurrent bouts of intraocular inflammation are still unknown.

In the present study vitreous Samples were analyzed to obtain information about cellular content and distribution of the different cell types Vitreous samples (gathered by vitrectomy) were taken of 74 eyes (68 horses) with ERU, nine eyes (nine horses) with glaucoma, seven eyes (seven horses) with non-ERU-uveitis and of ten eyes (seven horses) without any ocular disease (controls). For histological examination samples including vitreous floaters were formaline-fixed and paraffin-embedded. Additionally, samples of 13 horse with ERU were prepared for cytological examination by cytocentrifugation after removing the vitreous flare. All samples were evaluated by light-microscopy. Both, cellular content and prevalence of different cell types were correlated with degree of diffuse opacity of the vitreous body, degree of vitreous floaters and time after last inflammation attack.

Cellular content in the vitreous body was significantly increased in samples of horses with ERU in comparison to controls ( $p < 0,001$ ). Samples of horses with glaucoma and non-ERU-uveitis showed a lower concentration of cells than samples of horses with ERU. With increasing degree of opacity of the vitreous body and vitreous floaters we found an increasing number of horses with middle and high levels of cellular content in the vitreous body. Following cell types were found: lymphocytes, plasma cells, macrophages and sporadically granulocytes. Additionally we found a large amount of degenerated cells. In samples of horses with high degrees of vitreous floaters we found high amounts of lymphocytes and macrophages.

Significant differences were seen in distribution of cells: high levels of lymphocytes dominated the liquid part of the vitreous body ( $p < 0,006$ ), whereas high levels of plasma cells and macrophages were seen in vitreous floaters ( $p < 0,001$ ). Because all ERU affected horses got a positive result in testing aqueous humor or vitreous body for leptospira-antigen or -antibody titers, these findings lead

to the presumption of infection-associated immunological processes in the vitreous body.

The highest concentration of cells was found between 8<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> day after beginning of the last acute inflammation attack. After this period, the cell concentration decreased, but never reached the low level of the controls. From this it follows that the clinical quiescent periods of ERU are no immunological quiescent periods.

For further investigations on the pathogenesis of recurrent bouts of inflammation an immunohistochemical examination of vitreous samples could be useful to distinguish between T- and B- lymphocytes and to differentiate between CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells. Additionally there should be a determination of the cytokines occurring in vitreous. These findings should be compared again with the clinical findings of the patient and with the stage of ERU of course.

## 8 Anhang

### 8.1 Danksagung

Bei Frau Dr. B. Wollanke möchte ich mich ganz herzlich bedanken für die Überlassung des interessanten Themas und die stets freundliche Unterstützung und Betreuung sowie die Korrektur dieser Arbeit.

Vielen Dank an Frau Dr. K. Brandes, die mit der Probenbearbeitung und konstruktiven Hinweisen diese Arbeit maßgeblich unterstützt hat. Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Dr. K. Matiassek und seiner Mitarbeiterin Frau K. Stingl für die Unterstützung der Laborarbeiten.

Ich bedanke mich bei dem gesamten Team der Pferdeklinik der LMU München für die Hilfe beim Sammeln der Proben, die fachliche Weiterbildung und die schöne Zeit in München.

Mein Dank gilt Herrn Dr. S. Reese für die freundliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Bei Herrn Dr. U. Walliser möchte ich mich bedanken für die freundliche Aufnahme in seiner Klinik und die Möglichkeit zur Entnahme von Kontrollproben.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir eine sorgenfreie Studien- und Promotionszeit ermöglichten. Meiner Mutter danke ich besonders für die konstruktive Kritik in allen Phasen der Arbeit und für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Ich danke meinen Geschwistern Susanne und Johannes Roth für stete Hilfsbereitschaft bei der Literaturrecherche.

Abschließend bedanke ich mich bei meinem Verlobten Martin Aßmann für die liebevolle Unterstützung der Promotion in allen Bereichen.

## 9 Literaturverzeichnis

- Abrams, K. L., und Brooks, D. E. (1990). Equine recurrent uveitis: current concepts in diagnosis and treatment. *Equine Pract.*, 12(7), 27-35.
- Ackermann, M. R. (2009). Akute Entzündung. In M. D. McGavin, J. F. Zachary, J. P. Übers. u Hrsg.: Teifke, C. V. Löhr, R. Klopffleisch und R. E. Marschang (Eds.), *Pathologie der Haustiere* (2 ed.). Elsevier, Urban & Fischer Verlag, München.
- Alexander, C. S., und Keller, H. (1990). [Etiology and occurrence of periodic eye inflammation of horses in the area of Berlin]. *Tierarztl Prax*, 18(6), 623-627.
- Allen, W. S., Otterbein, E. C., und Wardi, A. H. (1977). Isolation and characterization of the sulfated glycosaminoglycans of the vitreous body. *Biochim Biophys Acta*, 498(1), 167-175.
- Angelos, J., Oppenheim, Y., Rebhun, W., Mohammed, H., und Antczak, D. F. (1988). Evaluation of breed as a risk factor for sarcoid and uveitis in horses. *Anim Genet*, 19(4), 417-425.
- Asakura, A. (1985). [Histochemistry of hyaluronic acid of the bovine vitreous body by electronmicroscopy]. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi*, 89(1), 179-191.
- Badiola, J., Thiermann, A. B., und Cheville, N. F. (1983). Pathologic features of leptospirosis in hamsters caused by *Leptospira interrogans* serovars hardjo and szwajizak. *Am J Vet Res*, 44(1), 91-99.
- Balazs, E. A. (1954). Studies on the structure of the vitreous body. I. The absorption of ultraviolet light. *Am J Ophthalmol*, 38(1:2), 21-28.
- Balazs, E. A., und Denlinger, J. L. (1982). Aging changes in the vitreous. In R. Sekular, D. Kline und K. Dismukes (Eds.), *Aging and human visual function* (pp. 45-57): Alan R. Riss, Inc., New York.

- Balazs, E. A., Laurent, T. C., Laurent, U. B., Deroche, M. H., und Bunney, D. M. (1959). Studies on the structure of the vitreous body. VIII. Comparative biochemistry. *Arch Biochem Biophys*, 81(2), 464-479.
- Balazs, E. A., Sundblad, L., und Toth, L. Z. (1958). In vitro formation of hyaluronic acid by cells in the vitreous body and by comb tissue. *Abstr Fed Proc*, 17, 184.
- Balazs, E. A., Toth, L. Z., Eckl, E. A., und Mitchell, A. P. (1964). Studies on the Structure of the Vitreous Body. Xii. Cytological and Histochemical Studies on the Cortical Tissue Layer. *Exp Eye Res*, 3, 57-71.
- Balazs, E. A., Toth, L. Z., und Ozanics, V. (1980). Cytological studies on the developing vitreous as related to the hyaloid vessel system. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*, 213(2), 71-85.
- Barnett, K. C. (2004). *Equine ophthalmology; an atlas and text*. Elsevier Limited.
- Barnett, K. C., Crispin, S. M., Lavach, J. D., und Matthews, A. G. (1995). *Color atlas and text of equine ophthalmology*. Mosby-Wolfe.
- Baumgärtner, W., und Schmidt, P. (2011). Entzündung. In W. Baumgärtner und A. Gruber (Eds.), *Allgemeine Pathologie für die Tiermedizin* (pp. 180-221). Enke Verlag, Stuttgart.
- Bayer, J. (1900). Die Mondblindheit oder periodische Augenentzündung. *Monatsh Tierheilkd*, X, 433-488.
- Bertazolli-Filho, R., Laicine, E. M., und Haddad, A. (1996). Biochemical studies on the secretion of glycoproteins by isolated ciliary body of rabbits. *Acta Ophthalmol Scand*, 74, 343-347.
- Bishop, P., Ayad, S., Reardon, A., McLeod, D., Sheehan, J., und Kielty, C. (1996). Type VI collagen is present in human and bovine vitreous. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 234(11), 710-713.



- Bishop, P., McLeod, D., und Ayad, S. (1992). Extraction and characterisation of the intact form of bovine vitreous type IX collagen. *Biochem Biophys Res Commun*, 185(1), 392-397.
- Bishop, P. N. (2000). Structural macromolecules and supramolecular organisation of the vitreous gel. *Prog Retin Eye Res*, 19(3), 323-344.
- Bishop, P. N., Crossman, M. V., McLeod, D., und Ayad, S. (1994). Extraction and characterization of the tissue forms of collagen types II and IX from bovine vitreous. *Biochem J*, 299 ( Pt 2), 497-505.
- Bishop, P. N., McLeod, D., und Reardon, A. (1999). Effects of hyaluronan lyase, hyaluronidase, and chondroitin ABC lyase on mammalian vitreous gel. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 40(10), 2173-2178.
- Bistner, S., und Shaw, D. (1980). Uveitis in the horse: Part II - diagnosis and therapy. *Minnesota Vet*, 20, 36-42.
- Bleckmann, H. (1984). Glycosaminoglycan metabolism of cultured fibroblasts from bovine vitreous. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 222(2), 90-94.
- Bloom, G. D., und Balazs, E. A. (1965). An electron microscopic study of hyalocytes. [In Vitro]. *Exp Eye Res*, 4(3), 249-255.
- Bolte, H. F. (1996). *Uveitis, a sequela to experimentally induced Leptospira pomona infection in the shetland pony*. Purdue University, MSc Thesis.
- Brandes, K., Wollanke, B., Niedermaier, G., Brem, S., und Gerhards, H. (2007). Recurrent uveitis in horses: vitreal examinations with ultrastructural detection of leptospire. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 54(5), 270-275.
- Brem, S., Gerhards, H., Wollanke, B., Meyer, P., & Kopp, H. (1999). [35 leptospira isolated from the vitreous body of 32 horses with recurrent uveitis (ERU)]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 112(10-11), 390-393.

- Brewton, R. G., Wright, D. W., und Mayne, R. (1991). Structural and functional comparison of type IX collagen-proteoglycan from chicken cartilage and vitreous humor. *J Biol Chem*, 266(8), 4752-4757.
- Brockhurst, R. J., Schepens, C. L., und D., O. I. (1961). Uveitis III. Peripheral Uveitis; Pathogenesis, etiology and treatment. *Am J Ophthalmol*, 51, 19-26.
- Brooks, D. E. (2003). Equine glaucomas. In N. E. Robinson (Ed.), *Current Therapie in Equine Medicine* (5 ed.). Verlag Saunders.
- Brooks, D. E., Komaromy, A. M., und Kallberg, M. E. (1999). Comparative optic nerve physiology: implications for glaucoma, neuroprotection, and neuroregeneration. *Vet Ophthalmol*, 2(1), 13-25.
- Bryans, J. T. (1955). Studies on equine leptospirosis. *Cornell Vet*, 45(1), 16-50.
- Bttelheim, F. A., und Balazs, E. A. (1968). Light-scattering patterns of the vitreous humor. *Biochim Biophys Acta*, 158(2), 309-312.
- Carlton, W. (1983). Pathology in equine recurrent uveitis. In R. Pfeiffer (Ed.), *Comparative ophthalmic pathology* (pp. 264-271). CC Thomas, Springfield, Illinois.
- Caspi, R. R. (2006). Ocular autoimmunity: the price of privilege? [Review]. *Immunol Rev*, 213, 23-35.
- Cooley, P. L., Wyman, M., und Kindig, O. (1990). Pars plicata in equine recurrent uveitis. *Vet Pathol*, 27(2), 138-140.
- Cross, R. S. (1966). Equine periodic ophthalmia. *Vet Rec*, 78(1), 8-13.
- Cullen, C. L., und Grahn, B. H. (2000). Equine glaucoma: a retrospective study of 13 cases presented at the Western College of Veterinary Medicine from 1992 to 1999. [Case Reports]. *Can Vet J*, 41(6), 470-480.

- Danielson, K. G., Baribault, H., Holmes, D. F., Graham, H., Kadler, K. E., und Iozzo, R. V. (1997). Targeted disruption of decorin leads to abnormal collagen fibril morphology and skin fragility. *J Cell Biol*, 136(3), 729-743.
- Deeg, C. A. (2008). Ocular immunology in equine recurrent uveitis. *Vet Ophthalmol*, 11 Suppl 1, 61-65.
- Deeg, C. A. (2009). A proteomic approach for studying the pathogenesis of spontaneous equine recurrent uveitis (ERU). *Vet Immunol Immunopathol*, 128(1-3), 132-136.
- Deeg, C. A., Amann, B., Raith, A. J., und Kaspers, B. (2006). Inter- and intramolecular epitope spreading in equine recurrent uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 47(2), 652-656.
- Deeg, C. A., Ehrenhofer, M., Thureau, S. R., Reese, S., Wildner, G., und Kaspers, B. (2002). Immunopathology of recurrent uveitis in spontaneously diseased horses. *Exp Eye Res*, 75(2), 127-133.
- Deeg, C. A., Hauck, S. M., Amann, B., Pompetzki, D., Altmann, F., Raith, A., . . . Ueffing, M. (2008). Equine recurrent uveitis--a spontaneous horse model of uveitis. *Ophthalmic Res*, 40(3-4), 151-153.
- Deeg, C. A., Kaspers, B., Gerhards, H., Thureau, S. R., Wollanke, B., und Wildner, G. (2001). Immune responses to retinal autoantigens and peptides in equine recurrent uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 42(2), 393-398.
- Deeg, C. A., Pompetzki, D., Raith, A. J., Hauck, S. M., Amann, B., Suppmann, S., . . . Ueffing, M. (2006). Identification and functional validation of novel autoantigens in equine uveitis. *Mol Cell Proteomics*, 5(8), 1462-1470.
- Deeg, C. A., Thureau, S. R., Gerhards, H., Ehrenhofer, M., Wildner, G., und Kaspers, B. (2002). Uveitis in horses induced by interphotoreceptor retinoid-binding protein is similar to the spontaneous disease. *European Journal of Immunology*, 32(9), 2598-2606.

- Drießen, F. N. (2009). *Untersuchungen zum Glaukom beim Pferd*. München, LMU, Med. Vet. Fak., Diss.
- Drommer, W., Romeike, A., und Deegen, E. (1996). Immunpathologische Befunde bei equiner rezidivierender Uveitis. *Tagungsberichte der 14. Arbeitstagung der Fachgruppe Pferdekrankheiten der DVG*, 334-344.
- Dubielzig, R. R., Render, J. A., und Morreale, R. J. (1997). Distinctive Morphologic Features of the Ciliary Body in Equine Recurrent Uveitis. *Vet Comp Ophthalmol*, 7(3), 163-168.
- Dwyer, A. E., Crockett, R. S., und Kalsow, C. M. (1995). Association of leptospiral seroreactivity and breed with uveitis and blindness in horses: 372 cases (1986-1993). *J Am Vet Med Assoc*, 207(10), 1327-1331.
- Ehl, S., Hombach, J., Aichele, P., Hengartner, H., und Zinkernagel, R. M. (1997). Bystander activation of cytotoxic T cells: studies on the mechanism and evaluation of in vivo significance in a transgenic mouse model. *J Exp Med*, 185(7), 1241-1251.
- Eisner, G. (1975). [Gross anatomy of the vitreous body (author's transl)]. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*, 193(1), 33-56.
- Errington, B. J. (1941). Ophthalmology in equidae. *J Am Vet Med Assoc*, 108, 115-123.
- Eule, J. C., Wagner, B., Leibold, W., und Deegen, E. (2000). [Occurrence of various immunoglobulin isotopes in horses with equine recurrent uveitis (ERU)]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 113 (6), 253-257.
- Faine, S. (1994). *Leptospira and leptospirosis*. CRC Press, Boca Raton.
- Faulborn, J., und Topping, T. M. (1978). Proliferations in the vitreous cavity after perforating injuries - a histopathological study. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*, 205, 157-166.

- Fröhner, E. (1910). Die Mondblindheit oder periodische Augenentzündung. In E. Fröhner (Ed.), *Kompendium der speziellen Chirurgie für Tierärzte* (4 ed., pp. 31-35). Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- Fröhner, E., und Eberlein, R. (1920). Die periodische Augenentzündung oder Mondblindheit. In E. Fröhner und R. Eberlein (Eds.), *Kompendium der speziellen Chirurgie für Tierärzte* (6 ed., pp. 36). Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- Garrity, G. M., Boone, D. R., und Castenholz, R. W. (2001) *Bergey's manual of systematic bacteriology Bd. I* (2 ed.). Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg.
- Gärtner, J. (1965). [Electron microscopic studies on vitreous body-cortical cells and zonular fibers]. [In Vitro]. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 66(5), 737-764.
- Gärtner, J. (1971). The fine structure of the vitreous base of the human eye and pathogenesis of pars planitis. *Am J Ophthalmol*, 71(6), 1317-1327.
- Gärtner, J. (1986). Electron-microscopic study on the fibrillar network and fibrocyte--collagen interactions in the vitreous cortex at the ora serrata of human eyes with special regard to the role of disintegrating cells. *Exp Eye Res*, 42(1), 21-33.
- Gelatt, K. N. (1971). Ophthalmoscopic studies in the normal and diseased ocular fundus of horses. *J Am Anim Hosp Assoc*, 7, 158-167.
- Gelatt, K. N. (1972). The eye. In E. J. Catcott und J. F. Smithcors (Eds.), *Equine medicine & surgery* (2 ed., pp. 399-432). American veterinary publications.
- Gelatt, K. N. (1973). Glaucoma and lens luxation in a foal. *Vet Med Small Anim Clin*, 68(3), 261.
- Gerhards, H., und Wollanke, B. (2001). Uveitis bei Pferden - Diagnose und Therapie. *Pferdeheilkunde*, 17, 319-329.
- Gerhards, H., und Wollanke, B. (2002). Einsatz der Vitroptik bei Pferden: Endoskopie des Glaskörperraums und angrenzender Strukturen. *Pferdeheilkunde*, 18(6), 559-562.

- Gerhards, H., und Wollanke, B. (2005). Surgical Treatment of equine recurrent uveitis: Trans-Pars-Plana-Vitrectomy in Horses. In B. Gilger (Ed.), *Equine Ophthalmology* (Vol. 1, pp. 314-319). Elsevier Saunders.
- Gerhards, H., und Wollanke, B. (2006). Equine rezidivierende Uveitis. In O. Dietz und B. Huskamp (Eds.), *Praxishandbuch Pferdepraxis* (3 ed., pp. 775-785). Enke Verlag, Stuttgart.
- Gesell, S. (2004). *Gibt es eine asymptomatische intraokulare Leptospireninfektion beim Pferd?* München, LMU, Vet. med. Fak., Diss.
- Gilger, B., und Deeg, C. (2011). Equine recurrent Uveitis. In B. Gilger (Ed.), *Equine ophthalmology* (2 ed., pp. 317 - 349). Elsevier, Saunders.
- Gilger, B. C. (2010). Equine recurrent uveitis: the viewpoint from the USA. [Review]. *Equine Vet J Suppl*, 42 Suppl 37, 57-61.
- Gilger, B. C., und Brooks, D. E. (2009). International Equine Ophthalmology Consortium (IEOC) Symposium. [Congresses]. *Equine Vet J*, 41(6), 606-607.
- Gilger, B. C., Malok, E., Cutter, K. V., Stewart, T., Horohov, D. W., und Allen, J. B. (1999). Characterization of T-lymphocytes in the anterior uvea of eyes with chronic equine recurrent uveitis. *Vet Immunol Immunopathol*, 71(1), 17-28.
- Gilger, B. C., Yang, P., Salmon, J. H., Jaffe, G. J., und Allen, J. B. (2002). Expression of a chemokine by ciliary body epithelium in horses with naturally occurring recurrent uveitis and in cultured ciliary body epithelial cells. *Am J Vet Res*, 63(7), 942-947.
- Giving, M. (2013). Dissertation in Vorbereitung
- Gloor, B. P. (1969). [Cellular proliferation, cicatrization and pigmentation following photocoagulation (experiments with rabbits)]. *Klin Monbl Augenheilkd*, 154 (5), 633-648.
- Gloor, B. P. (1973). [Development of the vitreous body and zonula. I. Overview and chronological course of the vitreous body and zonula development in the rabbit and mouse]. *Albrecht Von*

*Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*, 186(4), 299-309.

Grabner, G., Boltz, G., und Forster, O. (1980). Macrophage-like properties of human hyalocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 19(4), 333-340.

Grisanti, S. (1998). [Immune privilege of the eye]. [Review]. *Ophthalmologe*, 95(2), 124-135.

Gsell, O., Rehsteiner, K., und Verrey, F. (1946). Iridocyclitis als Spätfolge von Leptospirosis pomona (Schweinehüterkrankheit). *Ophthalmologica*, 112, 320-334.

Gum, G. G. (1991). Physiology of the eye. In K. Gelatt (Ed.), *Textbook of Veterinary Ophthalmology* (pp. 124-161). Lea & Febiger, Philadelphia.

Haddad, A., und Andre, J. C. (1998). Hyalocyte-like cells are more numerous in the posterior chamber than they are in the vitreous of the rabbit eye. *Exp Eye Res*, 66(6), 709-718.

Hall, C. E., und Bryans, J. T. (1954). A case of leptospirosis in a horse. *Cornell Vet*, 44(3), 345-348.

Halliwell, R. E., und Hines, M. T. (1985). Studies on equine recurrent uveitis. I: Levels of immunoglobulin and albumin in the aqueous humor of horses with and without intraocular disease. *Curr Eye Res*, 4(10), 1023-1031.

Hamburg, A. (1959). Some investigations on the cells of the vitreous body. *Ophthalmologica*, 138, 81-107.

Hara, T., und Hara, T. (1992). Intraocular lens implantation in an almost completely retained capsular bag with a 4.5- to 5.0-millimeter linear dumbbell opening in the human eye. *Ophthalmic Surg*, 23(8), 545-550.

Hassenkamp, F. (1974). *Glaskörperveränderungen bei Sportpferden*. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

Henderson, M., Polewski, R., Fanning, J. C., und Gibson, M. A. (1996). Microfibril-associated glycoprotein-1 (MAGP-1) is specifically located on the beads of the beaded-filament structure



for fibrillin-containing microfibrils as visualized by the rotary shadowing technique.

*J Histochem Cytochem*, 44(12), 1389-1397.

Herring, I. P., Pickett, J. P., Champagne, E. S., Troy, G. C., und Marini, M. (2000). Effect of topical 1% atropine sulfate on intraocular pressure in normal horses. *Vet Ophthalmol*, 3(2-3), 139-143.

Heußner, H., Gsell, O., Kanter, V., und Wiesmann, E. (1948). Die periodische Augenentzündung der Pferde als Leptospiroseerkrankung. *Schweiz Med Wschr*, 78, 756-758.

Hewicker-Trautwein, M., und Beineke, A. (2011). Immunpathologie. In W. Baumgärtner und A. Gruber (Eds.), *Allgemeine Pathologie für die Tiermedizin* (pp. 257-258). Enke Verlag, Stuttgart.

Hines, M. T. (1984). Immunologically mediated ocular disease in the horse. *Vet Clin North Am Large Anim Pract*, 6(3), 501-512.

Hoffmann, K., und Wurster, U. E. (1974). [Possible significance and origin of enzymes in the vitreous body of cattle (author's transl)]. [Comparative Study]. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*, 190(1), 79-96.

Hogan, M. J. (1963). The Vitreous, Its Structure, and Relation to the Ciliary Body and Retina. Proctor Award Lecture. *Invest Ophthalmol*, 2, 418-445.

Hogan, M. J. (1975). Inflammation and its effect on the vitreous. *Trans Ophthalmol Soc U K*, 95, 378-381.

Hogan, M. J., Alvarado, J. A., und Weddel, J. E. (1971). *Histology of the human eye. An atlas and textbook*. Saunders, Philadelphia, London, Toronto.

Hultsch, E. (1979). Vitreous structure and ocular inflammation. In A. M. Silverstein und G. R. O'Connor (Eds.), *Immunology and immunopathology of the eye* (pp. 97-102).

- Masson, USA. Hultsch, E., und Balazs, E. A. (1973). In vitro synthesis of glycosaminoglycans and glycoproteins by cells of the vitreous. *Invest Ophthalmol*, 14 (ARVO), 43.
- Hurn, S. D., und Turner, A. G. (2006). Ophthalmic examination findings of Thoroughbred racehorses in Australia. *Vet Ophthalmol*, 9(2), 95-100.
- Jacobsen, B. (1984a). Identification of sialyl and galactosyl transferase activities in calf vitreous hyalocytes. *Curr Eye Res*, 3, 1033-1041.
- Jacobsen, B. (1984b). Degradation of glycosaminoglycans by extracts of calf vitreous hyalocytes. *Exp Eye Res*, 39, 373-385.
- Jacobsen, B., Österlin, S., und Balazs, E. A. (1966). A soluble hyaluronic acid synthesizing system from calf vitreous. *Proc Fed Am Soc Exp Biol*, 25, 588.
- Jiang, L. Q., und Streilein, J. W. (1991). Immune responses elicited by transplantation and tissue-restricted antigens expressed on retinal tissues implanted subconjunctivally. *Transplantation*, 52(3), 513-519.
- Jiang, L. Q., und Streilein, J. W. (1991). Immune privilege extended to allogeneic tumor cells in the vitreous cavity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 32(1), 224-228.
- Jiang, L. Q., Streilein, J. W., und McKinney, C. (1994). Immune privilege in the eye: an evolutionary adaptation. *Dev Comp Immunol*, 18(5), 421-431.
- Jones, T. C., Roby, T. O., und Maurer, F. D. (1946). The relation of riboflavin to equine periodic ophthalmia. *Am J Vet Res*, 7(25), 403-416.
- Kalich, J. (1952). Leptospirose und periodische Augenentzündung. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 65, 5-9.
- Kalsow, C. M., und Dwyer, A. E. (1998). Retinal immunopathology in horses with uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*, 6(4), 239-251.

- König, S., Klingelhöfer, K., und Wollanke, B. (2003). Intraokulare Gentamicininjektion bei einem Pferd mit absolutem Glaukom. *Pferdeheilkunde*, 19(2), 165-168.
- Kosiewicz, M. M., Okamoto, S., Miki, S., Ksander, B. R., Shimizu, T., und Streilein, J. W. (1994). Imposing deviant immunity on the presensitized state. *Journal of Immunology*, 153(7), 2962-2973.
- Kroger, S. (1997). Differential distribution of agrin isoforms in the developing and adult avian retina. *Mol Cell Neurosci*, 10(3-4), 149-161.
- Ksander, B. R., Acevedo, J., und Streilein, J. W. (1992). Local T helper cell signals by lymphocytes infiltrating intraocular tumors. *Journal of Immunology*, 148(6), 1955-1963.
- Lassaline, M. E., und Brooks, D. E. (2005). Equine Glaucoma. In B. C. Gilger (Ed.), *Equine Ophthalmology* (pp. 323-339). Verlag Elsevier Saunders.
- Lavach, J. D. (1990). *Large animal ophthalmology*. The C. V. Company, St. Louis, Baltimore.
- Lazarus, H. S., und Hageman, G. S. (1994). In situ characterization of the human hyalocyte. *Arch Ophthalmol*, 112(10), 1356-1362.
- Levett, P. N. (2001). Leptospirosis. [Review]. *Clin Microbiol Rev*, 14(2), 296-326.
- Loibl, J. (2009). *Immunologische und mikrobiologische Untersuchungen zur intraokular persistierenden Leptospireninfektion bei Pferden mit rezidivierender Uveitis* München, LMU, Vet. med. Fak., Diss.
- Lowe, R. C. (2010). Equine uveitis: a UK perspective. *Equine Vet J Suppl*(37), 46-49.
- Lutjen-Drecoll, E., und Kruse, F. E. (2007). [Primary open angle glaucoma. Morphological bases for the understanding of the pathogenesis and effects of antiglaucomatic substances]. [Review]. *Ophthalmologe*, 104(2), 167-178.

- Matthews, A. G., Waitkins, S. A., und Palmer, M. F. (1987). Serological study of leptospiral infections and endogenous uveitis among horses and ponies in the United Kingdom. *Equine Vet J*, 19 (2), 125-128.
- Maumenee, A. E. (1970). Clinical entities in "uveitis": An approach to the study of intraocular inflammation. *Am J Ophthalmol*, 69, 1-27.
- Maxwell, S. A., Hurt, D., Brightman, A. H., und Takemoto, D. (1991 ). Humoral response to retinal proteins in horses with recurrent uveitis. *Prog Vet Comp Ophthalmol*, 1, 155-162.
- Mayne, R., Ren, Z. X., Liu, J., Cook, T., Carson, M., und Narayana, S. (1999). VIT-1: the second member of a new branch of the von Willebrand factor A domain superfamily. [Comparative Study Review]. *Biochem Soc Trans*, 27(6), 832-835.
- McGrath, H., Adler, B., Vinh, T., und Faine, S. (1984). Phagocytosis of virulent and avirulent leptospire by guinea-pig and human polymorphonuclear leukocytes in vitro. *Pathology*, 16(3), 243-249.
- Mellor, D. J., Love, S., Walker, R., Gettinby, G., und Reid, S. W. (2001). Sentinel practice-based survey of the management and health of horses in northern Britain. *Vet Rec*, 149(14), 417-423.
- Merien, F., Baranton, G., und Perolat, P. (1997). Invasion of Vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence. *Infect Immun*, 65(2), 729-738.
- Miller, T. R., Brooks, D. E., Gelatt, K. N., King, T. C., Smith, P. J., Sapienza, J. S., und Pellicane, P. C. (1995). Equine glaucoma: clinical findings and response to treatment in 14 horses. *Vet. and Comp. Ophthalmol.*, 5(3), 170-182.
- Möller, H. H. (1910). Iridochorioiditis und Cyclitis. In H. Möller *Lehrbuch der Augenheilkunde für Tierärzte*, (4 ed., pp. 149-203). Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

- Morreale, R. J., Wilkie, D. A., Gemensky-Metzler, A. J., Weisbrode, S. E., und Willis, M. A. (2007). Histologic effect of semiconductor diode laser transscleral cyclophotocoagulation on the normal equine eye. [Evaluation Studies]. *Vet Ophthalmol*, 10(2), 84-92.
- Mughannam, A. J., Buyukmihci, N. C., und Kass, P. H. (1999). Effect of topical atropine on intraocular pressure and pupil diameter in the normal horse eye. *Vet Ophthalmol*, 2(4), 213-215.
- Munroe, G. (2000). Study of the hyaloid apparatus in the neonatal thoroughbred foal. *Vet Rec*, 146(20), 579-584.
- Nasisse, M. P., McGahan, M. C., Shields, M. B., Echelman, D., und Fleisher, L. N. (1992). Inflammatory effects of continuous-wave neodymium: yttrium aluminum garnet laser cyclophotocoagulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 33(7), 2216-2223.
- Nattermann, H. (2006). Leptospirose. In O. Dietz und B. H. Huskamp (Eds.) *Handbuch Pferdepraxis* (pp. 698-699). Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- Newsome, D. A., Linsenmayer, T. F., und Trelstad, R. L. (1976). Vitreous body collagen. Evidence for a dual origin from the neural retina and hyalocytes. *J Cell Biol*, 71(1), 59-67.
- Nickel, R., Schummer, A., & Seiferle, E. (2004). *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Band IV*. Parey Verlag, Stuttgart.
- Niederkorn, J., Streilein, J. W., und Shadduck, J. A. (1981). Deviant immune responses to allogeneic tumors injected intracamerally and subcutaneously in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 20(3), 355-363.
- Niederkorn, J. Y., Shadduck, J. A., und Streilein, J. W. (1981). Immunogenetic basis for immunologic privilege in the anterior chamber of the eye. *Immunogenetics*, 13(3), 227-236.
- Niederkorn, J. Y., und Streilein, J. W. (1983). Alloantigens placed into the anterior chamber of the eye induce specific suppression of delayed-type hypersensitivity but normal cytotoxic T lymphocyte and helper T lymphocyte responses. *Journal of Immunology*, 131(6), 2670-2674.

- Niedermaier, G. (2002). *Elektronenmikroskopische Untersuchung des Glaskörpers des Pferdes mit equiner rezidivierender Uveitis*. München, LMU, Med. Vet. Fak., Diss.
- Niedermaier, G., Wollanke, B., Hoffmann, R., Brem, S., und Gerhards, H. (2006). [Detection of leptospira in the vitreous body of horses without ocular diseases and of horses with equine recurrent uveitis (ERU) using transmission-electron microscopy]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 113(11), 418-422.
- Niedermaier, G., Wollanke, B., Hoffmann, R., Matiassek, K., und Gerhards, H. (2006). [Depiction of the structure of the vitreous body in horses without ocular diseases and in horses with equine recurrent uveitis (ERU) using transmission electron microscopy]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 113(6), 211-217.
- Nishikawa, S., und Tamai, M. (1996). Ultrastructure of hyaluronic acid and collagen in the human vitreous. *Curr Eye Res*, 15(1), 37-43.
- Nishitsuka, K., Kashiwagi, Y., Tojo, N., Kanno, C., Takahashi, Y., Yamamoto, T., . . . Yamashita, H. (2007). Hyaluronan production regulation from porcine hyalocyte cell line by cytokines. *Exp Eye Res*, 85(4), 539-545.
- Nussenblatt, R. B., und Gery, I. (1996). Experimental autoimmune uveitis and its relationship to clinical ocular inflammatory disease. [Review]. *J Autoimmun*, 9(5), 575-585.
- Österlin, S. E. (1968). The synthesis of hyaluronic acid in vitreous. III. In vivo metabolism in the owl monkey. *Exp Eye Res*, 7(4), 524-533.
- Österlin, S. E. (1969). The synthesis of hyaluronic acid in the vitreous. IV. Regeneration in the owl monkey. *Exp Eye Res*, 8(1), 27-34.
- Parma, A. E., Cerone, S. I., und Sansinanea, S. A. (1992). Biochemical analysis by SDS-PAGE and western blotting of the antigenic relationship between *Leptospira* and equine ocular tissues. *Vet Immunol Immunopathol*, 33(1-2), 179-185.

- Parma, A. E., Fernandez, A. S., Santisteban, C. G., Bowden, R. A., und Cerone, S. I. (1987). Tears and aqueous humor from horses inoculated with *Leptospira* contain antibodies which bind to cornea. *Vet Immunol Immunopathol*, 14(2), 181-185.
- Parma, A. E., Santisteban, C. G., Villalba, J. S., und Bowden, R. A. (1985). Experimental demonstration of an antigenic relationship between *Leptospira* and equine cornea. *Vet Immunol Immunopathol*, 10(2-3), 215-224.
- Parma, A. E., Sanz, M. E., Lucchesi, P. M., Mazzonelli, J., und Petruccielli, M. A. (1997). Detection of an antigenic protein of *Leptospira interrogans* which shares epitopes with the equine cornea and lens. *Vet J*, 153(1), 75-79.
- Pirie, A., Schmidt, G., und Waters, J. W. (1948). Ox Vitreous Humour. 1.-the Residual Protein. *Br J Ophthalmol*, 32(6), 321-339. Pollitt, C. C., Holdsworth, P. A., Kelly, W. R., Meacham, C. S., und Sheahan, B. (1986). Treatment of equine onchocerciasis with ivermectin paste. *Aust Vet J*, 63(5), 152-156.
- Qiao, H., Hisatomi, T., Sonoda, K. H., Kura, S., Sassa, Y., Kinoshita, S., . . . Ishibashi, T. (2005). The characterisation of hyalocytes: the origin, phenotype, and turnover. *Br J Ophthalmol*, 89(4), 513-517.
- Reardon, A., Heinegard, D., McLeod, D., Sheehan, J. K., und Bishop, P. N. (1998). The large chondroitin sulphate proteoglycan versican in mammalian vitreous. *Matrix Biol*, 17(5), 325-333.
- Reardon, A., Sandell, L., Jones, C. J., McLeod, D., und Bishop, P. N. (2000). Localization of pN-type IIA procollagen on adult bovine vitreous collagen fibrils. *Matrix Biol*, 19(2), 169-173.
- Rebhun, W. C. (1979). Diagnosis and treatment of equine uveitis. [Review]. *J Am Vet Med Assoc*, 175(8), 803-808.
- Rhodes, R. H. (1985). An Ultrastructural-Study of Complex Carbohydrates in the Posterior Chamber and Vitreous Base of the Mouse. *Histochemical Journal*, 17(3), 291-312.



- Riese, K. (1974). *Veränderungen des Glaskörpers beim Pferd. Litertaur, klinischen und biochemische Untersuchungen*. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- Ringvold, A. (1980). Aqueous humour and ultraviolet radiation. *Acta Ophthalmol (Copenh)*, 58(1), 69-82.
- Roberts, C. S., York, C. J., und Robinson, J. W. (1952). An outbreak of leptospirosis in horse on a small farm. *J Am Vet Med Assoc*, 121, 237-242.
- Roberts, S. J. (1958). Sequelae of leptospirosis in horses on a small farm. *J Am Vet Med Assoc*, 133(4), 189-194.
- Roizenblatt, J., Grant, S., und Foos, R. Y. (1980). Vitreous cylinders. *Arch Ophthalmol*, 98(4), 734-739.
- Romeike, A., Brugmann, M., und Drommer, W. (1998). Immunohistochemical studies in equine recurrent uveitis (ERU). *Vet Pathol*, 35(6), 515-526.
- Rossi, P., und Kolochine-Erber, B. (1956). Leptospiroses équines. *Rec. Méd. Vét.*, 132, 21-35.
- Saga, T., Tagawa, Y., Takeuchi, T., Nerome, K., und Matsuda, H. (1984). Electron microscopic study of cells in vitreous of guinea pig. *Jpn J Ophthalmol*, 28(3), 239-247.
- Samuelson, D. A. (1991). Ophthalmic embryology and anatomy. In K. Gelatt (Ed.) *Textbook of veterinary Ophthalmology* (pp. 3-123). Lea & Febiger, Philadelphia.
- Schaeffer, E. (2007). Auge. In E. Dahme und E. H. Weiss (Eds.), *Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere* (pp. 324-325). Enke Verlag, Stuttgart.
- Schlaegel, T. F., Jr. (1973). Wet snow. *Arch Ophthalmol*, 89(2), 169-170.
- Schmidt, G. M., Krehbiel, J. D., Coley, S. C., und Leid, R. W. (1982). Equine ocular onchocerciasis: histopathologic study. *Am J Vet Res*, 43(8), 1371-1375.

- Schmidt, V., Gerhards, H., und Wollanke, B. (2006). Augenkrankheiten. In O. Dietz und B. Huskamp (Eds.), *Praxishandbuch Pferdekrankheiten* (pp. 756-795). Enke Verlag, Stuttgart.
- Schwalbe, -. zit. nach Sebag (1989).
- Schwarz, W. (1976). Electron microscopic study on the gel of the central part of the corpus vitreum in the ox. *Cell Tissue Res*, 168(2), 271-275.
- Schwazrnecker. (1892). Die periodische Augenentzündung im Saargebiet. *Z Veterinärk*, IV, 1-10.
- Schwink, K. L. (1992). Equine uveitis. [Review]. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 8(3), 557-574.
- Scott, J. E. (1992). The chemical morphology of the vitreous. [Review]. *Eye (Lond)*, 6 ( Pt 6), 553-555.
- Sebag, J. (1989). *The vitreous: Structure, function and pathobiology*. Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg.
- Sebag, J. (1992). Anatomy and pathology of the vitreo-retinal interface. [Review]. *Eye (Lond)*, 6 ( Pt 6), 541-552.
- Sebag, J., und Balazs, E. A. (1989). Morphology and ultrastructure of human vitreous fibers. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 30(8), 1867-1871.
- Setinec, A. (1900). Ein statistischer Beitrag zur Ophthlamoskopie und Mondblindheit. *Tierärztl Centralbl*, 23, 293-297.
- Silverstein, A. M. (1974). Immunogenic uveitis. Wherein it is demonstrated that the cure may sometimes be worse than the disease. [Review]. *Trans Ophthalmol Soc U K*, 94(2), 496-517.
- Sonoda, K. H., Sakamoto, T., Qiao, H., Hisatomi, T., Oshima, T., Tsutsumi-Miyahara, C., . . . Ishibashi, T. (2005). The analysis of systemic tolerance elicited by antigen inoculation into the vitreous cavity: vitreous cavity- associated immune deviation. *Immunology*, 116(3), 390-399.

- Sótonyi, P. (2010). Anatomie und Physiologie. In J. Tóth, J. Hollerrieder und P. Sótonyi (Eds.), *Augenheilkunde beim Pferd. Lehrbuch und Atlas* (pp. 3-31). Schattauer GmbH, Stuttgart.
- Sova, Z. (1964). [Febris grippotyphosa in horses, inapparent infections and iridocyclochoroditis. II]. *Zentralbl Bakteriol Orig*, 193(2), 239-248.
- Sova, Z. (1964). [An acute infectious disease of horses caused by *Leptospira grippotyphosa*]. *Zentralbl Bakteriol Orig*, 193(2), 224-238.
- Sova, Z. (1965). [Relation between leptospiral infections and iridocyclochoroditis in horses]. [In Vitro]. *Zentralbl Bakteriol Orig*, 197(1), 100-110.
- Spiess, B. M. (1997). [Equine recurrent uveitis]. [Review]. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 139(3), 126-133.
- Steiff, H. (1996). *Die Messung des intraokularen Druckes beim Pferd mit Hilfe des Tonopen®XL*. München, LMU, Vet. med. Fak., Diss.
- Straubinger, R. (2011). Gattung *Leptospira*. In M. Rolle und A. H. Mayr (Eds.), *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre* (pp. 140-144). Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- Streilein, J. W., Niederkorn, J. Y., und Shadduck, J. A. (1980). Systemic immune unresponsiveness induced in adult mice by anterior chamber presentation of minor histocompatibility antigens. *J Exp Med*, 152(4), 1121-1125.
- Szemes, P. A., und Gerhards, H. (2000). Untersuchungen zur Prävalenz der equinen rezidivierenden Uveitis im Großraum Köln-Bonn. *Prakt Tierarzt* 81, 408-420.
- Szirmai, J. A., und Balazs, E. A. (1958). Studies on the structure of the vitreous body. III. Cells in the cortical layer. *AMA Arch Ophthalmol*, 59(1), 34-48.
- Taylor, S. M. (2006). Erkrankungen der Gelenke. In R. W. Nelson & C. G. Couto (Eds.), *Innere Medizin der Kleintiere* (pp. 1153-1175). Elsevier Urban&Fischer Verlag, München, Jena.

- Tegge, G. (1954). *Augenerkrankungen bei Trabrennpferden*. Berlin, Freie Universität, Diss.
- Teng, C. C. (1969). An electron microscopic study of cells in the vitreous of the rabbit eye. I. The macrophage. *Eye Ear Nose Throat Mon*, 48(1), 46-55.
- Thomas, D. D., und Higbie, L. M. (1990). In vitro association of leptospire with host cells. *Infect Immun*, 58(3), 581-585.
- Tóth, J., und Hollerrieder, J. (2010). Augenerkrankungen. In J. Tóth, J. Hollerrieder und P. Sótonyi (Eds.), *Augenheilkunde beim Pferd. Lehrbuch und Atlas* (pp. 67-262). Schattauer GmbH, Stuttgart.
- Tsen, G., Halfter, W., Kroger, S., und Cole, G. J. (1995). Agrin is a heparan sulfate proteoglycan. *J Biol Chem*, 270(7), 3392-3399.
- Utter, M. E., und Brooks, D. E. (2011). Glaucoma. In B. Gilger (Ed.), *Equine ophthalmology* (Vol. 2, pp. 350-366). Elsevier, Saunders.
- Van Der Woerdt, A., Wilkie, D. A., Gilger, B. C., Strauch, S. M., und Orczeck, S. M. (2000). Effect of single- and multiple-dose 0.5% timolol maleate on intraocular pressure and pupil size in female horses. *Vet Ophthalmol*, 3 (2-3), 165-168.
- Van Doremale, J. C. (1873). Die Entwicklung der in fremden Grund versetzten lebenden Gewebe. *Albrecht Von Graefes Arch Ophthalmol*, 19, 358-373.
- Varga, L., und Balazs, E. A. (1954). Studies on the structure of the vitreous body. II. Electrophoretic and sedimentation properties. *Am J Ophthalmol*, 38(1:2), 29-37.
- Vinh, T., Faine, S., und Adler, B. (1984). Adhesion of leptospire to mouse fibroblasts (L929) and its enhancement by specific antibody. *J Med Microbiol*, 18(1), 73-85.
- Werry, H., und Gerhards, H. (1991). Möglichkeiten der und Indikationen zur chirurgischen Behandlung der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU). *Pferdeheilkunde*, 7(6), 321-331.

- Werry, H., und Gerhards, H. (1992). Zur operativen Therapie der equinen rezidivierenden Uveitis. *Tierarztl Prax*, 20(2), 178-186.
- Werts, C. (2010). Leptospirosis: a Toll road from B lymphocytes. [Review]. *Chang Gung Med J*, 33(6), 591-601.
- Werts, C., Tapping, R. I., Mathison, J. C., Chuang, T. H., Kravchenko, V., Saint Girons, I., . . . Ulevitch, R. J. (2001). Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. *Nat Immunol*, 2(4), 346-352.
- Whigham, H. M., Brooks, D. E., Andrew, S. E., Gelatt, K. N., Strubbe, D. T., und Biros, D. J. (1999). Treatment of equine glaucoma by transscleral neodymium:yttrium aluminum garnet laser cyclophotocoagulation: a retrospective study of 23 eyes of 16 horses. *Vet Ophthalmol*, 2(4), 243-250.
- Wilbanks, G. A., und Streilein, J. W. (1989). The differing patterns of antigen release and local retention following anterior chamber and intravenous inoculation of soluble antigen. Evidence that the eye acts as an antigen depot. [Comparative Study Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Reg Immunol*, 2(6), 390-398.
- Wilbanks, G. A., und Streilein, J. W. (1991). Studies on the induction of anterior chamber-associated immune deviation (ACAID). 1. Evidence that an antigen-specific, ACAID-inducing, cell-associated signal exists in the peripheral blood. *Journal of Immunology*, 146(8), 2610-2617.
- Wilcock, B. P., Brooks, D. E., und Latimer, C. A. (1991). Glaucoma in horses. *Vet Pathol*, 28(1), 74-78.
- Wilkie, D. A., und Gilger, B. C. (2004). Equine glaucoma. [Review]. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 20(2), 381-391.
- Williams, R. D., Morter, R. L., Freeman, M. J., und Lavignette, A. M. (1971). Experimental chronic uveitis. Ophthalmic signs following equine leptospirosis. *Invest Ophthalmol*, 10(12), 948-954.

- Williamson, J. S., und Streilein, J. W. (1988). Impaired induction of delayed hypersensitivity following anterior chamber inoculation of alloantigens. *Reg Immunol*, 1(1), 15-23.
- Winterberg, A. (1997). *Langzeitergebnisse der Pars-plana-Vitrektomie bei equiner rezidivierender Uveitis*. München, LMU, Vet. med. Fak., Diss.
- Wissdorf, H., Otto, B., und Gerhards, H. (2002). Augapfel und Sehnerv. In H. Wissdorf, H. Gerhards, B. Huskamp und E. Deegen (Eds.), *Praxisorientierte Anatomie und Propädeutik des Pferdes* (Vol. 2, pp. 112-142). M&H Schaper, Hannover.
- Witmer, R. (1954). Periodic ophthalmia in horses. *Am J Ophthalmol*, 37(2), 243-253.
- Witmer, R. H. (1955). [Etiological diagnosis of uveitis. I. Clinical and experimental results in man and animal]. *Albrecht Von Graefes Arch Ophthalmol*, 156(3), 235-260.
- Wollanke, B. (1995). *Untersuchungen zur Ätiologie der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU)*. München, LMU, Vet. med. Fak., Diss.
- Wollanke, B. (2002). *Die equine rezidivierende Uveitis (ERU) als intraokulare Leptospirose*. München, LMU, Vet. Med. Fak., Habil.
- Wollanke, B., Brem, S., Meyer, P., Forbig, T., Grassl, P., Gerhards, H., und Kopp, P. (2004). Prophylaxe der equinen rezidivierenden Uveiti (ERU): Erste Erfahrungen mit einem Leptospiren-Impfstoff bei Pferden. *Pferdeheilkunde*, 20(5), 447-454.
- Wollanke, B., und Gerhards, H. (2009). Equine rezidivierende Uveitis. *CVE Pferd*, 1 (6), 1-28.
- Wollanke, B., Gerhards, H., Brem, S., Kopp, H., und Meyer, P. (1998). [Intraocular and serum antibody titers to Leptospira in 150 horses with equine recurrent uveitis (ERU) subjected to vitrectomy]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 111(4), 134-139.
- Wollanke, B., Gerhards, H., Brem, S., Meyer, P., und Kopp, H. (2004). Ätiologie der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU): Autoimmunkrankheit oder intraokulare Leptospireninfektion? *Pferdeheilkunde*, 20(4), 327-340.

- Wollanke, B., Rohrbach, B. W., & Gerhards, H. (2001). Serum and vitreous humor antibody titers in and isolation of *Leptospira interrogans* from horses with recurrent uveitis. *J Am Vet Med Assoc*, 219(6), 795-800.
- Woods, A. C., and Chesney, A. M. (19331). The transmission of periodic ophthalmia of horses by means of filterable agent. *Vet. Med*, 26, 496-498.
- Worst, J. G. (1977). Cisternal systems of the fully developed vitreous body in the young adult. *Trans Ophthalmol Soc U K*, 97(4), 550-554.
- Wright, D. W., and Mayne, R. (1988). Vitreous humor of chicken contains two fibrillar systems: an analysis of their structure. *J Ultrastruct Mol Struct Res*, 100(3), 224-234.
- Wucherpfennig, K. W. (2001). Structural basis of molecular mimicry. *J Autoimmun*, 16(3), 293-302.
- Wurster, U. (1979). *Beiträge zu Struktur und Stoffwechsel des Glaskörpers*. Hannover, Techn. Univ., Diss.
- Wurster, U., and Hoffmann, K. (1985). Glaskörper. In O. Hockwin (Ed.), *Biochemie des Auges* (pp. 110-134). Enke Verlag, Stuttgart.
- Yada, T., Suzuki, S., Kobayashi, K., Kobayashi, M., Hoshino, T., Horie, K., and Kimata, K. (1990). Occurrence in chick embryo vitreous humor of a type IX collagen proteoglycan with an extraordinarily large chondroitin sulfate chain and short alpha 1 polypeptide. *J Biol Chem*, 265(12), 6992-6999.
- Yager, R. H., Gochenour, W. S., Jr., and Wetmore, P. W. (1950). Recurrent iridocyclitis (periodic ophthalmia) of horses; agglutination and lysis of leptospiras by serums deriving from horses affected with recurrent iridocyclitis. *J Am Vet Med Assoc*, 117(882), 207-209.
- Zwierzchowski, J. (1967b). Bekämpfung der tierischen Leptospirose. In J. Kathe und H. Mochmann (Eds.), *Leptospiren und Leptospirose. Teil I*. (pp. 984-1006). Gustav Fischer Verlag, Jena.